BAND 33, HEFT 4 OKTOBER 1958

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo
Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Heidelberg
Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras
Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo
Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich
M. Klinkowski Aschersleben
H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 47 Abbildungen

1958
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 33 Heft 4 *S. 321—432 Berlin 1958*

Postverlagsort Berlin

NSP
RAM
MM

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
10 NOV 1958

INHALT

Abhandlungen

KALYANASUNDARAM, R., und R. BRAUN, Über die Probleme der Baumwollwelke. Mit 18 Abb. 321

SURYANARAYANAN, S., Thiamine, its intermediates and growth of *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae*. With 1 figure 341

HERZMANN, H., Biochemische Untersuchungen über den Stoffwechsel gesunder und brennfleckenkranker Bohnen. I. Untersuchungen über Kohlenhydrate, Stickstoffverbindungen, Carbonsäuren und einige Oxydationsenzyme. Mit 12 Abb. 349

GREMMEN, J., Bemerkungen über einige *Cenangium ferruginosum* ähnliche Pilze. Mit einer Abb. 371

SCHWARZ, R., Untersuchungen über ein blattlausübertragbares, von Tabakfangpflanzen isoliertes Virus. Mit 5 Abb. 375

HACK, T., und H. WARTENBERG, Untersuchungen des Blattrollens der Tomatenpflanzen 385

BEREND, St., Zur Ätiologie der Aprikosenwelke. Mit 2 Abb. 399

BORTELS, H., Über Beziehungen zwischen der durch *Pseudomonas tabaci* (Wolf u. Foster) Stevens hervorgerufenen „Wildfeuer"-Erkrankung des Tabaks, Luftdruckänderungen und Solaraktivität. Mit 7 Abb. 403

Kurze Mitteilungen

SCHMELZER, K., und W. RONDOMAŃSKI, Zur Ätiologie des Mohnmosaiks. Mit einer Abb. 426

WETTER, C., und L. QUANTZ, Serologische Verwandtschaft zwischen Steinkleevirus, Stauchevirus der Erbse und Wisconsin pea streak-Virus 430

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,50 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 27,20 DM **Einzelpreis 30,— DM**

Aus dem Institut für Spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Über die Probleme der Baumwollwelke

Von

R. Kalyanasundaram*) und R. Braun

Mit 18 Abbildungen

Inhalt: 1. Einleitung. — 2. Der Erreger. A. Wachstum des Erregers und Bildung von Fusarinsäure in vitro. B. Saprophytische Phase. — 3. Wechselwirkungen von Wirt und Erreger. A. Reaktion des Wirtes während der Pathogenese. B. Toxinbildung des Parasiten in vivo. — 4. Pathogenität und Resistenz. — 5. Summary. — Literaturverzeichnis.

1. Einleitung

Die vorliegende Arbeit faßt die wichtigsten Ergebnisse der Untersuchungen über die Baumwollwelke zusammen, welche während der letzten zehn Jahre vor allem an der Universität Madras (Indien) erzielt wurden. Wir danken Herrn Prof. Dr. E. Gäumann für seine wertvollen Anregungen und Vorschläge und Herrn Prof. T. S. Sadasivan für die uneigennützige Beschaffung der notwendigen Unterlagen. Unser Dank gilt auch Herrn Dr. H. Kern für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Die Baumwollwelke und ihr Erreger, *Fusarium vasinfectum* Atk. (Atkinson, 1892), treten in allen Gebieten auf, in denen Baumwolle gepflanzt wird. Der durch die Baumwollwelke bedingte Ernteausfall kann mancherorts bis zu 50 % betragen. Infizierte Pflanzen zeigen nach einigen Tagen Aufhellungen längs der Blattnerven, welken und gehen zugrunde. Ein Teil der Schäden wird schon durch ein einziges Welketoxin, die Fusarinsäure, bewirkt, welche von *Fusarium vasinfectum* in vitro und im Innern der Wirtspflanze gebildet wird. In mancher Beziehung ist der Krankheitsablauf der Baumwollwelke ähnlich demjenigen der Tomatenwelke, welche durch *Fusarium lycopersici* Sacc. ausgelöst wird.

Die Kulturrassen der Baumwolle gehören im Prinzip zwei Gruppen an: einer asiatischen und einer amerikanischen mit Chromosomenzahlen von

*) Den Behörden der „Volkart-Stiftung" in Winterthur wird auch hier für die Gewährung eines Stipendiums gedankt.

13 bzw. 26. Die amerikanische Baumwollgrupppe, als „*Hirsuta*" bezeichnet, enthält die Arten *Gossypium hirsutum* und *Gossypium barbadense,* während ein Teil der asiatischen Baumwollrassen zur Gruppe der „*Herbacea*" mit den wichtigsten Arten *Gossypium arboreum* und *Gossypium herbaceum* gehört.

2. Der Erreger

A. Wachstum des Erregers und Bildung von Fusarinsäure in vitro

a) In einfachen Nährlösungen

Im Gegensatz zu *Fusarium lycopersici* bildet *Fusarium vasinfectum* kein Lycomarasmin. Daher stellte sich bei der Baumwollwelke auch nicht die Frage nach einem selektiv empfindlichen Testorganismus für Fusarinsäure. KALYANASUNDARAM (1955 a) bestimmte die Fusarinsäuremengen mit Hilfe eines Bakterientestes.

Normalerweise wird *Fusarium vasinfectum* in Richards-Nährlösung mit 5 % Rohrzucker und 1 % Kaliumnitrat kultiviert. Die Fusarinsäure erscheint am 7. Tage und erreicht ihr Maximum am 28. Tage. Das Myzelgewicht erreicht sein Maximum hingegen schon am 21. Tage (Abb. 1). Das pH der Nährlösung verschiebt sich bereits in der ersten Woche nach der alkalischen Seite (KALYANASUNDARAM, unveröffentlicht).

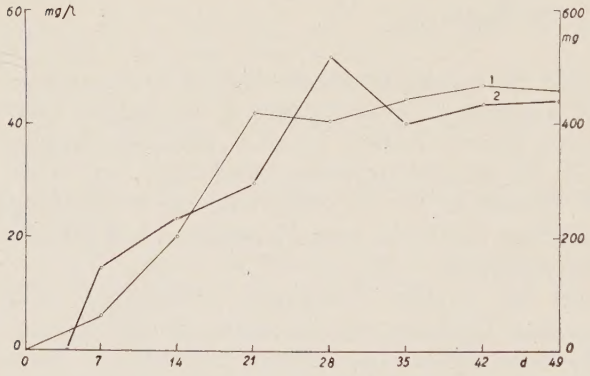


Abb. 1. Wachstum von *Fusarium vasinfectum* und Bildung von Fusarinsäure in Richards Nährlösung.

Abszisse: Kulturdauer in Tagen;

Ordinate: 1. mg Myzel je Kolben, 2. mg Fusarinsäure je Liter Kulturfiltrat.

(Nach KALYANASUNDARAM, unveröffentlicht)

Versuche mit unterschiedlichem Anfangs-pH ergaben eine maximale Toxinbildung bei pH 4,5. Sie sinkt bei steigendem pH und hört bei pH 7 überhaupt auf. Das Wachstum ist bereits bei einem anfänglichen pH von 6 gering. Die folgenden, als alleinige Kohlenstoffquellen benutzten Stoffe bewirkten alle eine ungefähr gleiche Toxinbildung: Glukose, Maltose, Raffinose, Mannit und Stärke. Hingegen veränderte sich die Fusarinsäurebildung je nach der Stickstoffquelle: am meisten Fusarinsäure wurde mit Pepton gebildet; darauf folgten Ammonnitrat und Kaliumnitrat. Mit Ammonsulfat war das Wachstum gering, und die Fusarinsäurebildung blieb überhaupt aus. Mit Pepton erschien die Fusarinsäure schon am 4. Tage in der Nährlösung (KALYANASUNDARAM, unveröffentlicht).

Die Kurve der Fusarinsäurebildung ist bei *Fusarium vasinfectum* in der Regel eingipflig (Abb. 1) im Gegensatz zur zweigipfligen Kurve bei *Fusarium lycopersici* (GÄUMANN, 1957). Im Verlaufe einiger Untersuchungen beobachteten KALYANASUNDARAM und SARASWATHI-DEVI (1955), daß Kulturen ihre Fähigkeit verloren, in vitro Fusarinsäure zu produzieren. In vivo erwiesen sie sich aber immer noch als pathogen. Einsporkulturen, die nach einer solchen Wirtspassage erhalten worden waren, bildeten von neuem Fusarinsäure: Dies stimmt gut mit der allgemeinen Erfahrung überein, daß Wirtspassagen die Pathogenität erhöhen (GÄUMANN, 1951). Die Menge der gebildeten Fusarinsäure variiert von einer Einsporkultur zur anderen sehr stark. Eine ähnliche Labilität der Fusarinsäurebildung tritt auch bei der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zutage: Vom gleichen Elternstamm können Nachkommen mit gesteigerter oder verminderter Fusarinsäurebildung erzeugt werden (VENKATA RAM, 1957).

Nachdem die Fusarinsäurekurve das Maximum überschritten hat, wird in der letzten Phase das Toxin wieder abgebaut. Da also die Fähigkeit des Fusarinsäureabbaus vorhanden ist, ist es durchaus denkbar, daß diejenigen Stämme, bei denen vor der Wirtspassage keine Fusarinsäure nachgewiesen werden konnte, das Toxin zwar bildeten, aber sofort wieder abbauten.

b) In Nährlösungen mit Spurenelement- und Vitaminzusätzen

Die Abhängigkeit des Wachstums von *Fusarium vasinfectum* von Eisen und Zink wurde von SARASWATHI-DEVI (1956) untersucht. Ein Mangel an diesen beiden Metallen wird durch Zugaben von Vitaminen wie Thiamin (Vitamin B_1) und Biotin (Vitamin H) nur teilweise behoben. In spurenelementfreier Richards-Nährlösung benötigt der Pilz zu normalem Wachstum bei 5 % Zucker 200 bis 320 γ Zink je Liter, bei 2,5 % Zucker aber nur noch 80 bis 120 γ. Wird auf der anderen Seite die Zinkzugabe weiterhin gesteigert, so bleibt das Wachstum gleich, die Sporenbildung nimmt aber noch zu. Änderungen des anfänglichen pH haben keinen Einfluß auf den Zinkbedarf.

Wird unter sonst optimalen Bedingungen der Zinkgehalt von Null an gesteigert, so stellt sich vorerst ein gutes Wachstum ein, und erst später beginnt die Bildung von Fusarinsäure, welche ein Maximum erreicht und bei unverändert gutem Wachstum bald wieder auf Null zurückfällt (Abb. 2; KALYANASUNDARAM und SARASWATHI-DEVI, 1955). Hier ist die Toxinbildung, und damit wahrscheinlich auch die Pathogenität, an enger begrenzte Lebensbedingungen gebunden, als sie für ein allgemein gutes Wachstum des Pilzes notwendig sind. Wenn in einem Wirt ähnliche Verhältnisse vorliegen, so ist es möglich, daß sich der Erreger in ihm ausbreiten kann, ohne eine Erkrankung zu verursachen. Das Resistenzproblem der Baumwollwelke konnte aber noch in keinem Falle auf diese Weise erklärt werden.

Die Wirkung von Zink auf andere physiologische Vorgänge wurde von SARASWATHI-DEVI (1956) untersucht. Sie bestimmte das Minimum, das für die Ascorbinsäurebildung, für die Zuckeraufnahme und die Säurebildung notwendig ist.

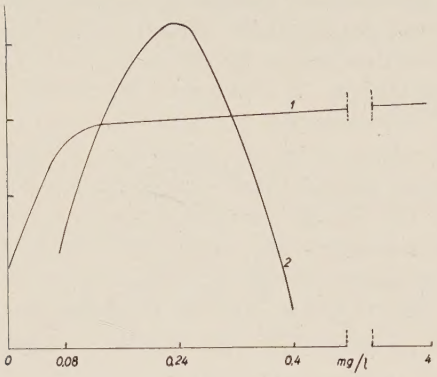


Abb. 2. Die Wirkung von Zink auf das Wachstum und die Toxinbildung von *Fusarium vasinfectum*.

Abszisse: mg Zink je Liter Nährlösung; Ordinate: 1. Trockengewicht des Myzels, 2. antibiotische Aktivität des Kulturfiltrates.

(Nach KALYANASUNDARAM und SARASWATHI-DEVI, 1955)

Eine mikrobielle Zinkbestimmung in drei Böden, welche von *Fusarium vasinfectum* verseucht waren, ergab, daß Baumwollpflanzen nur in den beiden Böden erkrankten, die weniger Zink enthielten. Zwar ist es naheliegend, das Ausbleiben einer Erkrankung durch eine Hemmung der Toxinbildung zu erklären; doch sind hier sicher noch andere Faktoren von Bedeutung, z. B. die gegenseitige Verknüpfung des Bedarfs an verschiedenen Nährstoffen und Spurenelementen. Wieweit der Gehalt an Zink tatsächlich für den Ausbruch der Krankheit verantwortlich sein kann, liegt noch im dunkeln.

B. Saprophytische Phase

a) Überleben und Ausbreitung in unbepflanztem Boden

Die edaphischen und biotischen Faktoren des Bodens sind für die Krankheitsanfälligkeit von entscheidender Bedeutung (MUNDKUR, 1936). Nicht nur ist die amerikanische Baumwolle gegenüber asiatischen Erregerstämmen resistent (und umgekehrt), sondern die beiden Baumwollgruppen bleiben auch in Gegenwart ihrer eigenen Erregerstämme in fremdem Boden weitgehend gesund (Tab. 1).

Tabelle 1

Die Pathogenität von *Fusarium vasinfectum* in amerikanischem Boden

Bei jeder Versuchsgruppe wurden 28 bis 32 Pflanzen verwendet; die Zahlen geben die prozentuale Erkrankung an. (Nach MUNDKUR, 1936)

Baumwollrasse	Pilzstamm	
	indisch	amerikanisch
indisch (Dhawar I)	21	0
indo-amerikanisch (Gadag)	0	82

Für eine erfolgreiche Infektion ist unter natürlichen Verhältnissen eine große Zahl lebensfähiger und virulenter Keime die Voraussetzung. Ein vom Boden her infizierender Krankheitserreger wie das *Fusarium vasinfectum* ist in Abwesenheit des Wirtes der Konkurrenz von lebenskräftigeren Bodensaprophyten ausgesetzt. Dabei genügt es nicht, daß der Erreger eben noch am Leben bleibt; er muß vielmehr beim erneuten Auftreten des Wirtes in so großer Menge vorhanden sein, daß eine Infektion zustande kommt. SUBRAMANIAN (1950) untersuchte das Verhalten von *Fusarium vasinfectum* im Boden mit folgenden Methoden:

Objektträger, auf denen der Pilz in dünner Agarschicht gewachsen war, wurden vergraben und nach einiger Zeit zur Untersuchung wieder aus dem Boden genommen (CHOLODNY, 1930).

Mit *Fusarium vasinfectum* infizierte Erde wurde in irdenen Töpfen mit einer gleichen Menge steriler Erde überschichtet. In verschiedenen Zeitabständen wurde das Überleben und die Ausbreitung des Pilzes mit Hilfe von Verdünnungsreihen ermittelt.

Stroh oder Stücke von Baumwollwurzeln wurden in infizierter Erde vergraben und ihre Besiedlung in Abhängigkeit von der Zeit untersucht (SADASIVAN, 1939).

Es ist klar, daß jeder dieser drei Methoden Nachteile anhaften, doch ergänzt eine Methode die andere in vorteilhafter Weise, und ihre kombinierten Ergebnisse zeigen ein bei weitem wirklichkeitsnäheres Bild, als es von einer einzigen Methode geliefert werden könnte.

Es hat sich gezeigt, daß *Fusarium vasinfectum* sich in bloßer Erde (d. h. solcher, die keine Pflanzenteile enthält) nicht ausbreiten kann. Die Ausbreitung wird durch den Mangel an Substrat und durch die konkurrenzierende Mikroflora gehemmt, wie die Zerstörung von *Fusariumsporen* in Abbildung 3 zeigt. Aus Tabelle 2 geht hervor, daß der Pilz scheinbar ungünstige physikalische Bedingungen besser ertragen kann als solche, welche die übrige Mikroflora fördern.

Tabelle 2

Prozent überlebender Hyphen von *Fusarium vasinfectum* im Boden bei Veränderung von Temperatur und Feuchtigkeit
(Nach SUBRAMANIAN, 1950)

Inkubation Tage	Feuchtigkeit					
	0 %		50 %		90 %	
	Temperatur					
	30 °	12,5 °	30 °	12,5 °	30 °	12,5 °C
2	98	98	72	98	24	50
5	98	96	66	96	—	46
9	96	98	58	90	18	44
14	94	98	24	78	16	38

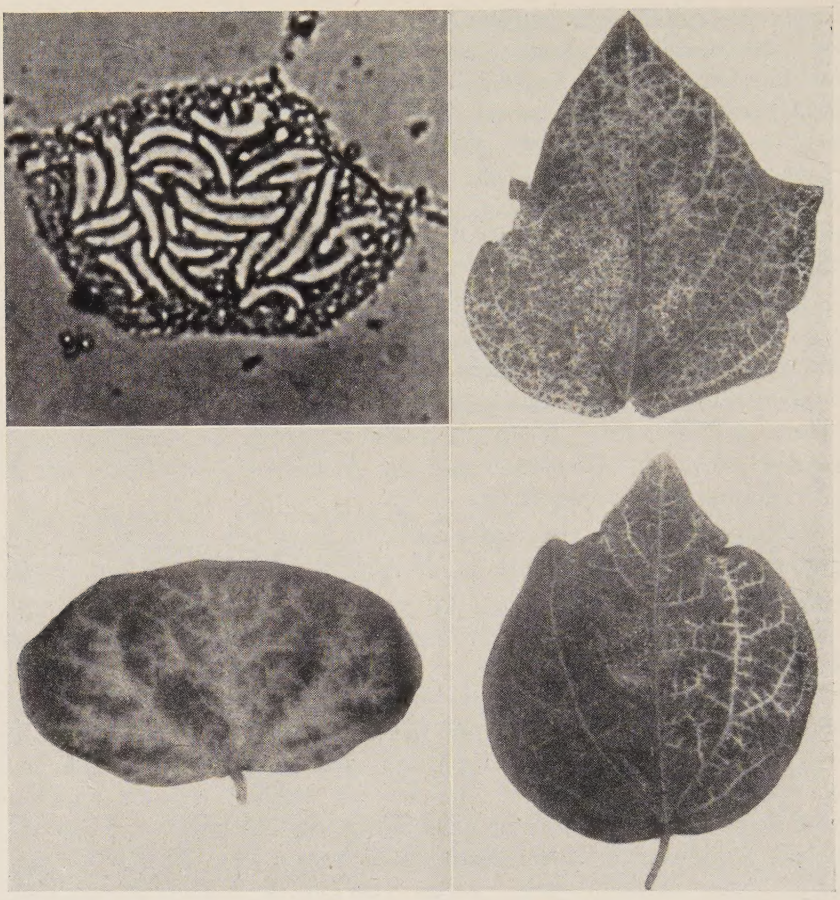


Abb. 3 (oben links). Zerstörung von *Fusarium*-Sporen durch Bakterien. Vergrößerung 890 ×. (Nach SUBRAMANIAN, 1950)

Abb. 4 (oben rechts). Vergilbung längs der größeren und der kleineren Gefäße. Natürliche Größe. (Nach KALYANASUNDARAM, 1954 a)

Abb. 5 (unten links). Vergilbung nur längs der größeren Gefäße. Vergrößerung 1,5 ×. (Nach KALYANASUNDARAM, 1954 a)

Abb. 6 (unten rechts). Partielle Aufhellung. Natürliche Größe. (Nach KALYANASUNDARAM, 1954 a)

Trotz der Unfähigkeit, sich in bloßer Erde auszubreiten, konnte der Erreger sich in den welkemüden Böden Südindiens auch dann jahrelang halten, wenn keine Baumwolle gepflanzt wurde. Diese Fähigkeit beruht darauf, daß der Pilz Teile verschiedener höherer Pflanzen besiedeln kann (Tab. 3). Dabei ist eine Temperatur von 29 bis 30 ° günstiger als eine solche von 11 bis 14 °C und eine Feuchtigkeit von 50 % geeigneter als eine solche von 10 % oder 90 % (SUBRAMANIAN, 1950). Die vertikale Verteilung des Erregers beträgt in welkemüden Böden etwa einen Meter.

Tabelle 3

Prozentuale Besiedlung verschiedener Pflanzenteile durch *Fusarium vasinfectum* in welkemüden Böden nach vier Wochen

(Nach SUBRAMANIAN, 1950)

Pflanze	Pflanzenteil	Besiedlung
Gossypium arboreum	Wurzeln	100
Gossypium arboreum	Stengel	95
Gossypium arboreum	Blätter	55
Hibiscus esculentus	Wurzeln	100
Hibiscus esculentus	Stengel	93
Hibiscus esculentus	Blätter	35
Vigna catjang	Wurzeln	53
Vigna catjang	Stengel	37
Euphorbia hirta	Wurzeln	100
Acalypha sp.	Wurzeln	90
Croton sparsiflorus	Wurzeln	100
Cleome viscosa	Wurzeln	50

Die Besiedlungsfähigkeit von *Fusarium vasinfectum* wird stark durch die Zusammensetzung der übrigen Mikroflora beeinflußt. Mit einer gemischten Flora, wie sie unter natürlichen Bedingungen vorhanden ist, kann *Fusarium vasinfectum* erfolgreich konkurrenzieren, nicht aber mit bestimmten einzelnen Arten wie *Trichoderma viride* und *Aspergillus niger* (Tab. 4).

Tabelle 4

Die Ausbreitung von *Fusarium vasinfectum* in Gegenwart anderer bodenbewohnender Pilze

(Nach SUBRAMANIAN, 1950)

Pilze	% Ausbreitung von *Fusarium*	% Ausbreitung anderer Pilze
Fusarium	100	—
Fusarium + *Rhizoctonia bataticola*	100	0
Fusarium + *Trichoderma lignorum*	0	100
Fusarium + *Dactylaria* sp.	0	100
Fusarium + *Aspergillus niger*	0	100
Fusarium + gemischte Mikroflora	10	100*

* Die Ausbreitung der einzelnen Pilze der gemischten Mikroflora beträgt: *Aspergillus niger* 100 %, *Cunninghamella echinulata* 20 %, *Rhizopus* sp. 30 %.

b) Überleben und Ausbreitung in der Rhizosphäre

Beim Erscheinen der Wirtspflanze leitet das Wachstum und die Ausbreitung des Pilzes in der Rhizosphäre die parasitische Phase ein. REYNOLDS

(1931) und TIMONIN (1941) zeigten, daß bei der Flachswelke die Rhizosphäre resistenter Varietäten Stoffe enthalten kann, welche indirekt das Wachstum von *Fusarium lini* hemmen. Diese Varietäten scheiden aus den Wurzeln Blausäure aus, welche das Wachstum von *Trichoderma viride* stimuliert: *Trichoderma viride* aber ist ein Antagonist von *Fusarium lini* und bildet für den Erreger daher eine Befallsschranke.

Die einzigen den Autoren bekannten Untersuchungen über die Verhältnisse in der Rhizosphäre bei der Baumwollwelke stammen von AGNIHOTRUDU (1954). Vor der Infektion und vor dem Ausbruch der Erkrankung konnte er den Parasiten immer aus der Rhizosphäre isolieren. Der Erreger der Tomatenwelke, *Fusarium lycopersici*, vermag sich auf den Wurzeln der Wirtspflanzen auszubreiten und kann dort mindestens eines der Toxine, die Fusarinsäure, bilden (KALYANASUNDARAM, 1958). Es ist anzunehmen, daß der Erreger leichter in die Wurzel eindringen kann, nachdem diese durch das Toxin bereits geschädigt worden ist.

Gewisse Indizien deuten auf ähnliche Verhältnisse bei der Baumwollwelke hin. In Erde, welcher Haferflocken oder grüne Blattschnitzel beigemengt worden waren, vermag *Fusarium vasinfectum* Fusarinsäure zu synthetisieren (KALYANASUNDARAM, 1955 b). Spuren von Fusarinsäure konnten auch in Erde nachgewiesen werden, welche Reste von Baumwollpflanzen enthielt (Tab. 5). Daß die Pflanzenreste für die Bildung der Fusarinsäure verantwortlich sind, geht daraus hervor, daß *Fusarium vasinfectum* in bloßer Erde nicht einmal gedeihen kann, geschweige denn, daß es dort Toxine bilden könnte.

Viele *Fusarium*-Arten können Zellulose abbauen, wie dies auch kürzlich für *Fusarium vasinfectum* in vitro gezeigt wurde (VENKATA RAM, 1956). Welche Bedeutung diese Fähigkeit im Krankheitsverlauf hat, ist noch nicht klar, doch ist anzunehmen, daß sich der Pilz während der saprophytischen Phase durch den Zelluloseabbau verwertbare Kohlenhydrate verschaffen kann.

Reichliche Bildung von Fusarinsäure tritt in Erde erst dann auf, wenn neben Kohlenhydraten auch andere organische Stoffe zugesetzt werden

Tabelle 5

Bildung von Fusarinsäure (mg/g Erde) durch *Fusarium vasinfectum* in steriler Erde mit verschiedenen Zusätzen

(Nach KALYANASUNDARAM, 1955)

Alter der Kultur (Tage)	Zusätze						
	kein	Glukose	Filterpapier	Baumwollstoppeln	Stallmist	grüne Blätter	Haferflocken
7	0	0	0	0	0	0	1,25
14	0	0	0	Spuren	0	2,30	7,90
21	0	0	0	0	0	2,90	2,19
28	0	0	0	0	0	2,60	2,00

(Tab. 5). Im Gegensatz hierzu bilden rein saprophytische Pilze wie *Penicillium* ssp. im Boden große Mengen Antibiotika, auch wenn ihnen als Zusatz nur Zucker geboten wird (Grossbard, 1952).

3. Wechselwirkungen von Wirt und Erreger

A. Reaktion des Wirtes während der Pathogenese

a) Klinisches Bild

An Sämlingen von *Gossypium arboreum*, die in künstlich infizierter Erde aufgezogen werden, tritt als erstes äußerlich sichtbares Symptom nach 13 Tagen eine Aufhellung der Gefäße der Kotyledonen und eine fleckige Verfärbung der ersten Primärblätter auf. Diese Inkubationszeit von 13 Tagen ist ein Mittelwert; die Einzelwerte können je nach der Menge des Impfmaterials und je nach der Baumwollrasse variieren (Satyanarayana und Kalyanasundaram, 1952; Kalyanasundaram, 1954 a). Die Entwicklung der Symptome kann nach drei verschiedenen Mustern vor sich gehen:

Ständig zunehmende Vergilbung längs der größeren und der kleineren Gefäße (Abb. 4);

Vergilbung nur längs der größeren Gefäße, ohne daß die kleineren irgendwelche Symptome aufweisen (Abb. 5);

Vergilbung nur entlang der Gefäße der einen Blatthälfte: partielle Aufhellung (Abb. 6). In einem fortgeschrittenem Stadium treten dann die Symptome in der anderen Blatthälfte meistens auch noch auf, sie können aber auch überhaupt fehlen.

An 90 Tage alten Pflanzen entwickeln sich die Symptome in acropetaler Folge. Die einzige, aber selten auftretende Abweichung ist das Erscheinen der Symptome an den Blättern einer einzigen Orthostiche. Dieser einseitige Typ, wie auch die partielle Aufhellung der Blätter, können einerseits durch unterschiedliche Bildung und Verschiebung von Toxin bedingt sein, anderseits ist mit einer unterschiedlichen Entgiftung und verschiedener Schädigungsschwelle von Wirt zu Wirt und auch von Gewebe zu Gewebe zu rechnen.

b) Anatomische Veränderungen

Stengel und Blätter von Baumwollpflanzen, welche in infizierter Erde aufgezogen werden, zeigen in ultraviolettem Licht eine charakteristische Fluoreszenz (Abb. 7), noch bevor sich die Gefäße in sichtbarem Licht aufhellen (Abb. 8). Nach der Infektion erscheint die Fluoreszenz zuerst in der Endodermis der Wurzel und eilt dem Erreger weit voraus den Leitbündeln entlang nach oben (Abb. 9 und 10). Der Phloemanteil der Leitbündel fluoresziert immer zuerst, da er offenbar das für den weiter unten befindlichen Erreger günstigere Substrat enthält (Subba Rao, 1954; Subba Rao, 1957). Die Aufnahme der Abbildung 9 mußte in Durchlicht gemacht

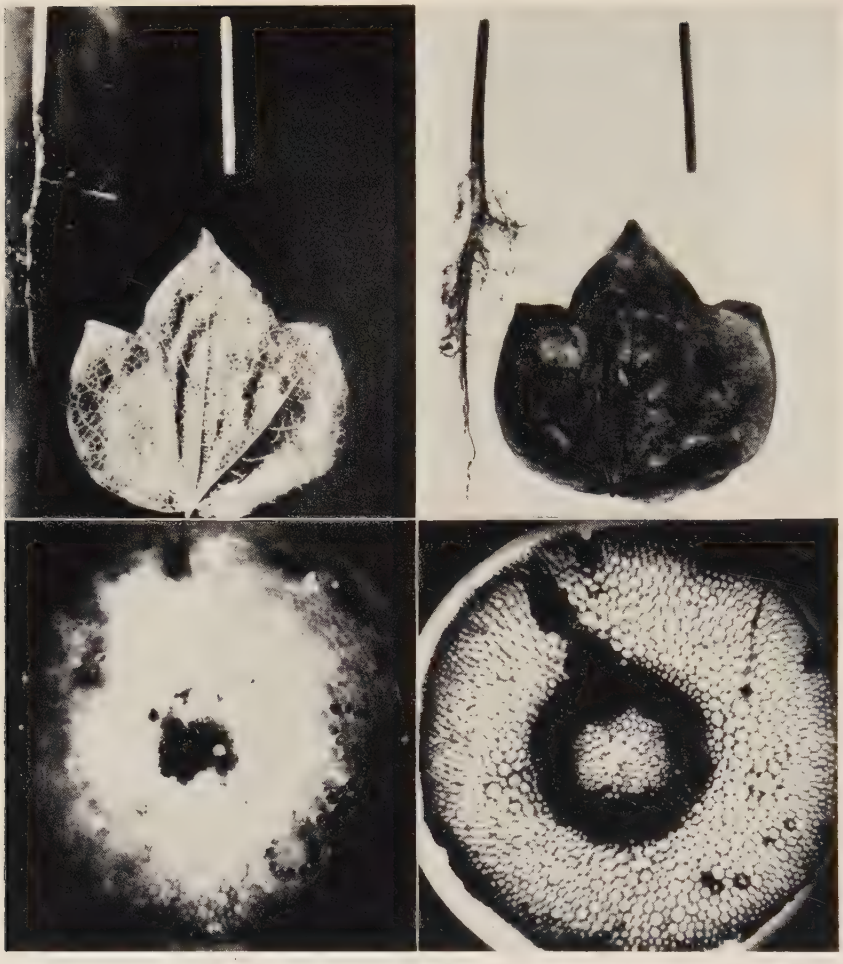


Abb. 7 (oben links). Fluoreszenz infizierter Baumwollpflanzen in ultraviolettem Licht. Natürliche Größe. (Nach SUBBA RAO, 1954)

Abb. 8 (oben rechts). In sichtbarem Licht zeigen die in Abbildung 7 dargestellten Pflanzenteile noch keine Aufhellung längs der Gefäße. Natürliche Größe. (Nach SUBBA RAO, 1954)

Abb. 9 (unten links). Fluoreszenz der Leitbündel einer infizierten Baumwollpflanze. Stengelquerschnitt. (Nach SUBBA RAO, 1954)

Abb. 10 (unten rechts). Der in Abbildung 9 dargestellte Stengelquerschnitt in sichtbarem Licht. (Nach SUBBA RAO, 1954)

werden: sie zeigt nur eine allgemeine Fluoreszenz der Leitbündel, während bei Beobachtung im Auflicht die Fluoreszenz genauer lokalisiert werden kann.

Es ist bemerkenswert, daß resistente Baumwollpflanzen keine Fluoreszenz zeigen, auch wenn sie erfolgreich infiziert worden waren (SUBBA RAO, 1957). Dies ist ein weiterer Hinweis dafür, daß

die für eine erfolgreiche Erkrankung notwendige Stoffwechselbeziehung zwischen Wirt und Erreger in den resistenten Arten überhaupt nicht zustande kommt.

c) Bedeutung der Toxine für das klinische Bild

Wie in einem späteren Kapitel noch genauer ausgeführt werden wird, ist die Fusarinsäure ein Vivotoxin sowohl der Baumwollwelke als auch der Tomatenwelke (Lakshminarayanan und Subramanian, 1955; Kalyanasundaram und Venkata-Ram, 1956; Kern und Kluepfel, 1956). Baumwoll- oder Tomatensprossen appliziert, ruft sie einen Teil der Symptome der entsprechenden Welkekrankheiten hervor. Ihre Wirkung ist durchaus gewebespezifisch; in den Stengeln von Tomatensprossen werden nicht die Leitungsbahnen, sondern nur die Rindengewebe, in den Blättern nur bestimmte Partien der Grundgewebe in charakteristischer, sichtbarer Weise geschädigt (Gäumann, 1957). Was für die Fusarinsäure als Toxin gilt, gilt auch für die Baumwollwelke als Krankheit; die Fusarinsäure ist auch im letzten Fall offensichtlich in wesentlichem Ausmaß an der Ausbildung der Symptome beteiligt.

Die Grundlage der gleichartigen, gewebespezifischen Wirkungen der Fusarinsäure bei beiden Welkekrankheiten ist nicht bekannt. Handelt es sich um den gleichen Wirkungsmechanismus oder kommt darin bloß zum Ausdruck, daß die Pflanze mit ihrer geringen somatischen Differenzierung nur über wenige Reaktionsmöglichkeiten verfügt?

d) Stoffwechseländerungen

α) Organische Stoffe

Infizierte, empfindliche Baumwollpflanzen enthalten am 5. Tage nach der Keimung, also lange vor dem Auftreten der grobsinnlichen Symptome, wenig Kohlenhydrate, von denen der größte Teil als freie Zucker vorliegt (Abb. 11), während die gesunden Pflanzen mehr Kohlenhydrate enthalten, von denen die freien Zucker nur einen geringen Teil ausmachen. In den infizierten Pflanzen nimmt in der folgenden Zeit die Kohlenhydratreserve weiter ab. In den resistenten Pflanzen ist die Lage anders. Unabhängig davon, ob sie infiziert sind oder nicht, nimmt ihr Kohlenhydratgehalt mit der Zeit progressiv zu; die freien Zucker machen nur einen geringen Teil der Kohlenhydrate aus. Die infizierten Pflanzen dieser Gruppe enthalten nur unwesentlich weniger Kohlenhydrate als die Kontrollpflanzen (Kalyanasundaram, 1955 c).

Tabelle 6

Das Verhältnis von organischem Nichtproteinstickstoff zu Proteinstickstoff in zwölf Tage alten Baumwollpflanzen

(Nach Satyanarayana aus Lakshminarayanan, 1955)

	Empfindliche Baumwolle	Resistente Baumwolle
Gesund	6,87	0,48
Infiziert	2,58	0,42

Im Stickstoffhaushalt der Pflanzen zeigen sich ähnliche Verschiebungen (SATYANARAYANA, 1955): Empfindliche Baumwollpflanzen enthalten mehr Nicht-Eiweißstickstoff als Eiweißstickstoff, während das Verhältnis in den resistenten Pflanzen eher ausgeglichen ist. Nach einer Infektion nimmt der Nicht-Eiweißstickstoff nur in der Gruppe der empfindlichen Pflanzen plötzlich ab, während er bei den anderen unverändert bleibt (Tab. 6). Ob die Vorliebe verschiedener anderer Arten von *Fusarium* für Nicht-Eiweißstickstoff damit in Zusammenhang steht, ist unbekannt (ZEEVART, 1955; SANWAL, 1956).

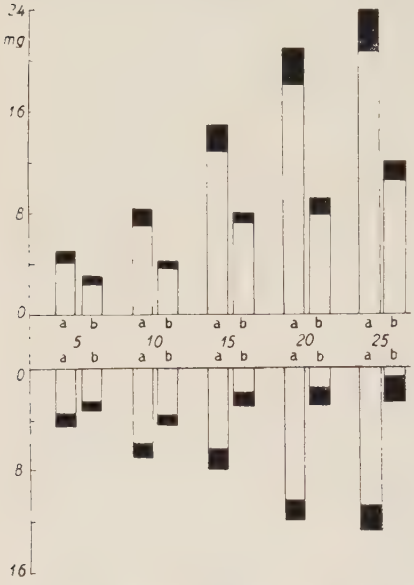


Abb. 11. Der Kohlenhydratgehalt (a) resistenter und (b) anfälliger Baumwolle, oben frei von Befall, unten mit *Fusarium vasinfectum* infiziert. Der schwarze Teil stellt die freien reduzierenden Zucker dar.
Abszisse: Alter in Tagen: Ordinate: mg/100 mg Trockengewicht.
(Nach KALYANASUNDARAM, 1954 b)

Der rasche Abbau der Kohlenhydrate wie auch der Stickstoffverbindungen in erkrankenden Pflanzen scheint dadurch bedingt zu sein, daß der Parasit sie rasch verbraucht. Die Frage, weshalb der Parasit die Konkurrenz um die Aufbaustoffe nur bei den empfindlichen Pflanzen zu seinen Gunsten beeinflussen kann, bleibt vorläufig unbeantwortet.

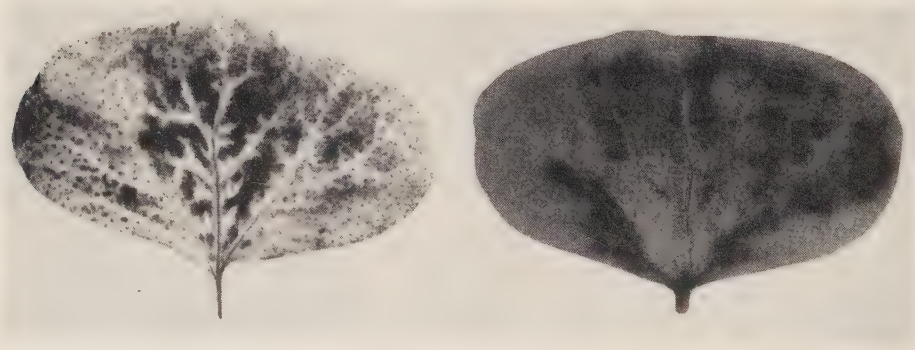


Abb. 12. Vor dem Auftreten der Symptome geht die Fähigkeit der Stärkesynthese verloren. Vergrößerung 2 ×. (Nach KALYANASUNDARAM, 1954 a)
Abb. 13. Zur gleichen Zeit, da die Fähigkeit der Stärkesynthese verlorengegangen ist, funktioniert der Stärketransport noch normal. Vergrößerung 2 ×.
(Nach KALYANASUNDARAM, 1954 a)

48 Stunden vor dem Erscheinen der grobsinnlichen Symptome verlieren infizierte Baumwollpflanzen die Fähigkeit zur Stärkesynthese an denjenigen Stellen, wo später die Symptome auftreten (Abb. 12). Der Stärketransport aus den gesund bleibenden Stellen ist zur gleichen Zeit noch normal (Abb. 13). Die folgende Aufhellung längs der Gefäße beruht auf einer Verringerung des Chlorophyllgehaltes durch eine Zerstörung der Gewebe und ihrer Chloroplasten (KALYANASUNDARAM, 1954 a).

Der Ascorbinsäuregehalt von Baumwollpflanzen, welche in infizierter Erde aufgezogen werden, sinkt vorerst, steigt dann vom 9. bis zum 15. Tage zu einem Maximum an, um in der folgenden Zeit — die Symptome sind eben aufgetreten — erneut zu fallen. In den gesunden Pflanzen nimmt der Ascorbinsäuregehalt während der ganzen Zeit ständig zu (Abb. 14; KALYANASUNDARAM, 1954 b).

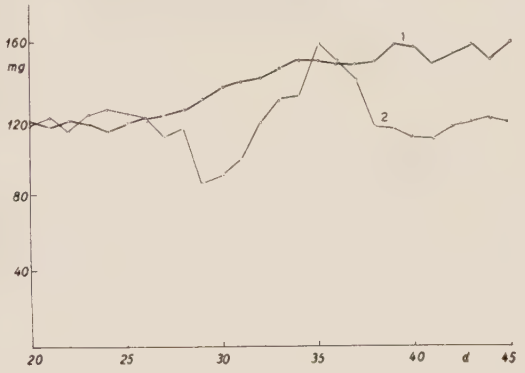


Abb. 14. Veränderung des Ascorbinsäuregehalts von gesunden (1) und am 20. Tage infizierten (2) Baumwollpflanzen.
Abszisse: Alter in Tagen; Ordinate: mg Ascorbinsäure/100 g Frischgewicht.
(Nach KALYANASUNDARAM, 1954 b)

Eine Untersuchung der Atmung ergab ähnliche Resultate. In den infizierten Pflanzen bleibt die Atmungsintensität vom 7. bis zum 14. Tage konstant und nimmt dann während der folgenden 7 Tage bedeutend zu. In den Kontrollpflanzen ist die Atmungsintensität während der ersten Periode größer als in den infizierten Pflanzen (Abb. 15; LAKSHMANAN, 1955). Da die Atmung von Tomatenpflanzen durch die Fusarinsäure allein gehemmt wird, ist es möglich, daß die Hemmung der Atmung bei Baumwollpflanzen während der ersten Periode durch die Fusarinsäure bedingt ist. Die Ursachen für die Zunahme der Atmung nach dem Auftreten der Symptome sind unbekannt. Bei der Tomatenwelke ist der Verlauf der Atmungsbeeinflussung gerade umgekehrt. Die anfängliche Steigerung der Atmung kann hier durch die Wirkung des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes erklärt werden (NAEF-ROTH und REUSSER, 1954; NAEF-ROTH, 1957). Möglicherweise wird auch bei der Baumwollwelke ein Stoff gebildet, der die Atmung während der zweiten Phase spezifisch steigert.

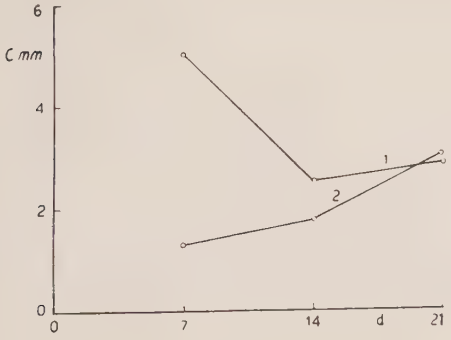


Abb. 15. Die Atmung von Gewebeschnitten (1) nicht infizierter und (2) infizierter Baumwollpflanzen.
Abszisse: Alter in Tagen; Ordinate: mm^3 O_2/Stunde × mg Gewebe.
(Nach LAKSHMANAN, 1955)

Im frühen Stadium der Aufhellung der Gefäße ist der Transport anorganischer Stoffe nach oben noch normal, wie dies von WAGGONER und DIMOND (1952) für die Tomatenwelke gezeigt wurde. Bei der Baumwollwelke verhält es sich mit der Verschiebung der Kohlenhydrate und mancher anderer Stoffe gleich (KALYANASUDARAM, 1954 a).

β) Anorganische Stoffe

Der Gehalt 18 Tage alter Baumwollpflanzen an folgenden Ionen wurde von SADASIVAN und KALYANASUNDARAM (1956) und SADASIVAN und SARASWATHI-DEVI (1957) flammenphotometrisch bestimmt: K, Ca, Mg und Mn. Es wurden drei Gruppen von Pflanzen untersucht: gesunde, kranke und scheinbar gesunde. Die letzte Gruppe enthält solche Pflanzen, die zwar infiziert sind, aber bis zum Zeitpunkt der Beobachtung die Symptome noch nicht zeigen.

Die kranken Pflanzen haben einen geringen Gehalt an allen diesen Ionen, besonders an K. Ein Vergleich zwischen den scheinbar gesunden und den gesunden Pflanzen ergibt ein überaus heterogenes Bild: die erste Gruppe enthält mehr Mg und Mn, die zweite mehr K und Ca (Abb. 16). Der geringere Ionengehalt kranker Pflanzen kann entweder durch eine gehinderte Aufnahme oder durch eine übersteigerte Abgabe durch die Blattoberfläche bedingt sein. Beide Vorgänge können sich natürlich auch überlagern.

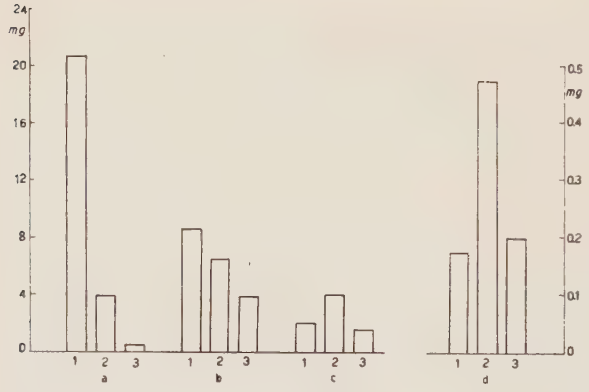


Abb. 16. Der Gehalt 18 Tage alter, mit *Fusarium vasinfectum* infizierter Baumwollpflanzen an Kalium (a), Calcium (b), Magnesium (c) und Mangan (d).

Abszisse: gesund (1), scheinbar gesund (2), krank (3); Ordinate: mg Element/g Trockengewicht.

(Nach SADASIVAN und SARASWATHI-DEVI, 1957)

Die physikalische Voraussetzung für den osmotischen Druck und somit auch für den Ionenhaushalt ist die Semipermeabilität der Plasmagrenzflächen. Werden diese geschädigt, so können verschiedene Stoffe aus den Zellen austreten und durch die Leitungsbahnen abtransportiert werden. Die Möglichkeit solcher Vorgänge bei Welkekrankheiten kann beurteilt werden, wenn der Effekt von Toxinen auf die Semipermeabilität bekannt ist.

GÄUMANN und LOEFFLER (1957) untersuchten die Wirkung der Fusarinsäure auf Markzellen von Tomatenpflanzen. Bei niederen Toxinkonzentrationen (10^{-7} bis 10^{-5} molar) wird die Wasserpermeabilität gesteigert und bei

höheren Toxinkonzentrationen (10^{-5} bis 10^{-3} molar) vermindert. Bei noch höheren Konzentrationen treten dann irreversible Schäden ein. In 18 Tage alten Baumwollpflanzen wird eine Fusarinsäurekonzentration von 10^{-4} molar erreicht (KALYANASUNDARAM und VENKATA RAM, 1956). Liegt die Empfindlichkeitsgrenze der Störung der Semipermeabilität bei der Baumwolle in der gleichen Größenordnung wie bei den Markzellen der Tomate, so ist eine schwere Schädigung der Plasmagrenzflächen und sekundär eine Ausschüttung von Ionen in die Leitungsbahnen und eine Ausscheidung durch die Blätter zu erwarten. Direkt konnte eine solche Situation bei der Baumwollwelke noch nicht nachgewiesen werden, hingegen konnte LINSKENS (1955) zeigen, daß Tomatenpflanzen, welche mit Fusarinsäure behandelt worden waren, größere Ionenmengen ausscheiden als unbehandelte Pflanzen. Die besonders stark gesteigerte Ausscheidung von K stimmt gut damit überein, daß infizierte Baumwollpflanzen praktisch kein K mehr enthalten.

In den kranken Pflanzen ist der Fusarinsäuregehalt also hoch genug, um eine Steigerung der Ionenausscheidung zu bewirken. In den scheinbar gesunden Pflanzen genügt die Fusarinsäurekonzentration indessen entweder nicht in der ganzen Pflanze oder in einzelnen Geweben, um diesen Effekt zu erzielen; ferner wird die Ausscheidung der verschiedenen Ionen unterschiedlich beeinflußt.

B. Toxinbildung des Parasiten in vivo

Als einziges toxisches Stoffwechselprodukt des Erregers wurde in Wurzeln, Stengeln und Blättern infizierter Baumwollpflanzen Fusarinsäure gefunden. Der Nachweis gelang LAKSHMINARAYANAN und SUBRAMANIAN (1955) papierchromatographisch mit Hilfe des Kupferkomplexes. 18 Tage alte infizierte Sämlinge enthalten 17 γ Fusarinsäure (Abb. 17 und 18; KALYANASUNDARAM, 1955 a; KALYANASUNDARAM und VENKATA RAM, 1956). Der Nachweis der Fusarinsäure in vivo gelang bei der Tomatenwelke ebenfalls, doch sind die gefundenen Mengen hier bedeutend geringer (KERN und KLUEPFEL, 1956). Dieser quantitative Unterschied kann vielleicht auf fol-

Tabelle 7

Die Sensibilität verschiedener Wirtsarten für Fusarinsäure
(Nach GÄUMANN, 1957)

Testobjekt		dosis minima mg/kg Lebendgewicht
Roggen	*Secale cereale*	1000—2000
Mais	*Zea Mays*	1000—2000
Erbsen	*Pisum sativum*	1000—2000
Bohnen	*Phaseolus vulgaris*	100— 200
Reis	*Oryza sativa*	100— 200
Tomatensprosse	*Solanum Lycopersicum*	150
Baumwolle	*Gossypium herbaceum*	10— 20

gende Weise erklärt werden: Die Fusarinsäuremenge, die einen bestimmten Schädigungsgrad auslöst, ist — bezogen auf das Frischgewicht — für Tomatenpflanzen achtmal größer als für Baumwollpflanzen (Tab. 7). Von einer gleichen Menge Fusarinsäure würde somit in Baumwollpflanzen weit mehr Fusarinsäure in freier Form zurückbleiben, ohne mit den Wirtszellen zu reagieren. Diese Differenz würde allerdings teilweise kompensiert, wenn *Fusarium lycopersici* im Wirt (ähnlich wie in vitro) mehr Fusarinsäure bilden würde als *Fusarium vasinfectum;* der Unterschied der Toxinbildung in vitro ist jedoch wesentlich geringer als der Unterschied der Fusarinsäureempfindlichkeit der beiden Wirtspflanzen.

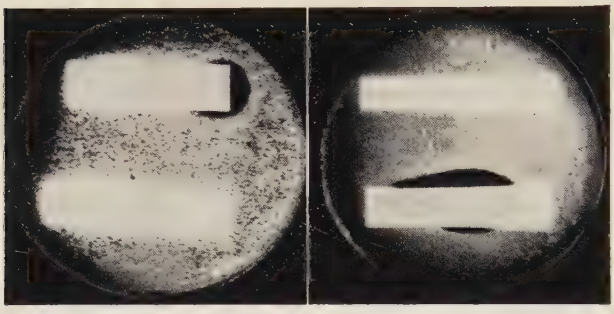


Abb. 17 (links). Streifen eines Chromatogramms mit reiner Fusarinsäure auf einer Bakterienplatte. 1/3 natürliche Größe. (Nach KALYANASUNDARAM und VENKATA RAM, 1956)

Abb. 18 (rechts). Streifen eines Chromatogramms eines Extraktes aus infizierten Baumwollpflanzen auf einer Bakterienplatte. 1/3 natürliche Größe. (Nach KALYANASUNDARAM und VENKATA RAM, 1956)

Die Keimung von Ustilago-Sporen wird durch Fusarinsäure und andere Stoffe, nicht aber durch Lycomarasmin, gehemmt. In vitro durchlaufen die Ustilago-Aktivitäten bei *Fusarium lycopersici* und *Gibberella Fujikuroi* eine zweigiflige Kurve. GÄUMANN (1957) schlägt vor: „Falls die pathogene Aktivität des *Fusarium lycopersici* und der *Gibberella Fujikuroi* auch während ihrer parasitischen Phase im Innern des Wirtes einem zweigipfligen Rhythmus folgen würde, so wäre es denkbar, daß das erste Aktivitätsmaximum bei Beginn des akuten Infektes, das zweite Aktivitätsmaximum beim Abschluß des chronischen Infektes durchlaufen wird." Für die Baumwollwelke wurde eine solche Situation von SUBBA RAO (1956) tatsächlich nachgewiesen. Am zweiten Tage nach der Keimung der Baumwollpflanzen — die Infektion war bereits zum Haften gekommen — gelang es ihm, in den Keimlingen Fusarinsäure nachzuweisen. In der folgenden Periode gelang dies nicht mehr, und erst beim Erscheinen der grobsinnlichen Symptome vom 12. Tage an war Fusarinsäure von neuem nachzuweisen. Bei der Baumwollwelke tritt Fusarinsäure also tatsächlich beim Beginn des akuten Infektes und beim Abschluß des chronischen Infektes auf. Das zeitliche Intervall zwischen den beiden Stadien wird von KALYANASUNDARAM (1954 b) als erste Vergiftungsphase (incipient toxaemia) bezeichnet; während dieser Periode wird der Krankheitsausbruch durch tiefgreifende Veränderungen des Stoffwechsels vorbereitet.

4. Pathogenität und Resistenz

Der Begriff der Pathogenität wurde in der Pflanzenpathologie so lange für verschiedene Tatbestände gebraucht, bis GÄUMANN (1951) drei Stufen unterschied, welche zu diesem Summationseffekt führen: Affinität, Aggressivität und Pathogenität. Viele Beobachtungen an Welkekrankheiten, welche durch verschiedene Arten von *Fusarium* verursacht werden, können als Beispiele für die Erläuterung dieser Begriffe herangezogen werden.

Auf der Leguminose *Cajanus cajan* (L.) Millsp. bewirkt *Fusarium vasinfectum* keine Erkrankung, wohl aber *Fusarium udum* Butl. Das *Fusarium vasinfectum* versucht nicht, in den potentiellen Wirt einzudringen, es wächst uninteressiert über ihn hinweg, als wäre es irgendein Stück Materie. Zwischen Wirt und Erreger besteht keine Affinität; die beiden werden nicht von einem Funktionskreis umschlossen, um einen Begriff aus der Umwelttheorie von v. UEXKÜLL zu entnehmen (v. UEXKÜLL und KRISZAT, 1956).

Im Feldversuch kann der Befall durch die Baumwollwelke mit Hilfe von organischen Düngern verringert werden (SUBRAMANIAN, 1950). Durch mikrobiellen Antagonismus wird das Wachstum des Erregers im Boden gebremst; durch eine Verminderung der Keimzahl wird die Aggressivität vermindert. Der Erreger vermag nicht mehr mit dem gleichen Erfolg in den Wirt einzudringen, sich in ihm auszubreiten und festzusetzen.

Ein indischer Stamm von *Fusarium vasinfectum* löst nur in der asiatischen Baumwolle eine Krankheit aus, nicht aber in der amerikanischen. Zwar breitet sich der Erreger auch in der amerikanischen Baumwolle aus, er ist also hier noch aggressiv, bildet aber keine bedeutenden Toxinmengen und ist daher nicht pathogen.

Auch für die Beleuchtung des Problems der Erkrankung von der anderen Seite her — vom Wirt — bieten verschiedene Fusariosen gute Beispiele.

Werden empfindliche Baumwollpflanzen in mit *Fusarium vasinfectum* infizierter Erde aufgezogen, so zeigen sie bei 37,5 °C einen weit geringeren Krankheitsbefall als bei 32,5 °C (KALYANASUNDARAM und SUBBA RAO, 1957). Mag das Resultat auch erstaunen, so ist doch zu bedenken, daß 37,5 °C weit über dem Temperaturoptimum für Baumwolle liegt und daß daher Reaktionen eintreten können, welche nicht ohne weiteres zu erwarten wären. Die Annahme, daß bei der höheren Temperatur weniger Fusarinsäure gebildet wird, trifft nicht zu; im Gegenteil konnte mehr Fusarinsäure isoliert werden als bei niederer Temperatur. Die Gewebe werden also vom Toxin überschwemmt, reagieren aber nicht darauf.

Sowohl in den resistenten Pflanzen, wie auch in jenen, welche eine große Toxinmenge unversehrt ertrugen, konnte Cystin nachgewiesen werden. In den kranken Pflanzen gelang der Nachweis nicht (LAKSHMINARAYANAN, 1955; KALYANASUNDARAM und SUBBA RAO, 1957). Cystein, das mit Cystin im Gleichgewicht steht, spielt bei Entgiftungen im tierischen Körper eine große Rolle (WILLIAMS, 1951). Versuche in vitro deuten auf die Möglichkeit hin,

daß Cystin bei der Baumwollwelke an einer solchen Abwehrreaktion beteiligt ist, doch wird eine sichere Entscheidung erst auf Grund weiterer Versuche getroffen werden können. Eine entsprechende Abwehrreaktion auf anderer chemischer Grundlage (N-Methylierung der Fusarinsäure) wurde bei der Tomatenwelke nachgewiesen (KLUEPFEL, 1957).

Summary

The most important results of investigations in India during the last ten years on the cotton wilt disease caused by *Fusarium vasinfectum* Ark. are here presented.

In vitro *Fusarium vasinfectum* produces the wilt toxin Fusaric acid (2-Carboxy-5-n-butyl-pyridine). In cultures its time of appearance and quantity produced depend on the nitrogen source of the medium. Growth and toxin production are also affected by trace elements. Toxin production only occurs in more restricted conditions of nutrition than are necessary for good growth and there is no correlation between in vitro toxin production and in vivo pathogenicity.

Fusarium vasinfectum belongs to the soil inhabitant class of fungi. It is capable of colonising host substrates left over in the "wilt sick" soil. This character is affected more by the biotic than the edaphic factors of the soil. Its colonisation can be explained partly by its capacity for cellulose decomposition and synthesis of fusaric acid which has antibiotic properties.

This pathogen has been shown to be present in the rhizosphere of the host plant before and after infection. Here it might also produce Fusaric axid, as recently has been shown for the pathogen of the tomato wilt disease.

Vein clearing is the first visible symptom of the "clinical picture" of the host during pathogenesis. Many variations of this are encountered. Anatomically the ground tissue with its plastids are destroyed. This results in the inhibition of starch synthesis. Nevertheless the conducting tissues are functioning normally at this stage.

The presence of a fluorescent substance throughout the conducting tissues of the diseased plants preceeding the vein clearing has been demonstrated. The fluorescence proceeds from the endodermis to the phloem and the xylem walls.

The fungus rapidly utilises the carbon and nitrogen sources of the infected susceptible plants. But it is unable to do so in the resistant plants. The ascorbic acid content of the diseased plants shows a peak at the time of symptom appearance which could be correlated to the intensity of respiration.

The content of various ions viz. K, Ca, Mg and Mn in the diseased plants shows a highly heterogenous pattern. This could

be due to the effect of differing fusaric acid gradients inside the plants resulting in either decreased or increased permeability of the plasma membrane.

The in vivo production of fusaric acid has been established, the quantity detected in 18 days old cotton plants being about 17 mg. per Kilogram fresh weight. Furthermore fusaric acid could be detected in the host plants at the twin stages of acute infection (2nd day) and chronic disease (12th day).

The reactions of the host can be explained by differing affinity, aggressiveness and pathogenicity of the parasite. On the other hand the resistance of cotton depends on its inherent properties for "induced tolerance", "antitoxic" defence reactions etc.; evidence for these facts has been presented.

Literaturverzeichnis

Agnihotrudu, V., 1954: Soil conditions and wilt diseases in plants: rhizosphere microflora in relation to fungal wilts. Doctoral Thesis, University of Madras.

Atkinson, G. F., 1892: Some diseases of cotton III. Frenching. Bull. Ala. Agri. Expt. Station 41.

Cholodny, N., 1930: Über eine neue Methode zur Untersuchung der Bodenmikroflora. Arch. f. Mikrobiol. **1**, 620—652.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— —, 1957: Über Fusarinsäure als Welketoxin. Phytopath. Z. **29**, 1—44.

— —, und W. Loeffler, 1957: Über die Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität der Markzellen von Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **28**, 319—328.

Grossbard, E., 1952: Antibiotic production by fungi in organic manures and soil. J. gen. Microbiol. **6**, 295—311.

Kalyanasundaram, R., 1954 a: Soil conditions and root diseases XIII. Symptomatology of *Fusarium* wilt. J. Indian bot. Soc. **33**, 329—337.

— —, 1954 b: Soil conditions and wilt diseases in plants: fungal wilts and changes in host metabolism. Doctoral Thesis, University of Madras.

— —, 1955 a: Bioassay of *Fusarium* toxin: agar cup method for quantitative evaluation. J. Indian bot. Soc. **34**, 43—46.

— —, 1955 b: Antibiotic production by *Fusarium vasinfectum* Atk. in soil. Curr. Sci. **24**, 310—311.

— —, 1955 c: Soil conditions and root disease XIV. Host parasite response to *Fusarium* wilt. Proc. Indian Acad. Sci. **42**, 145—153.

— —, 1958: Production of fusaric acid by *Fusarium lycopersici* Sacc. in the rhizosphere of tomato plants. Phytopath. Z. **32**, 25—34.

— —, and L. Saraswathi-Devi, 1955: Zinc in the metabolism of *Fusarium vasinfectum* Atk. Nature **175**, 945.

— —, and N. S. Subba Rao, 1957: Temperature effect on the in vivo production of fusaric acid. Curr. Sci. **26**, 56—57.

— —, and C. S. Venkata Ram, 1956: Production and systemic translocation of fusaric acid in *Fusarium* infected cotton plants. J. Indian bot. Soc. **35**, 7—10.

Kern, H., und D. Kluepfel, 1956: Die Bildung von Fusarinsäure durch *Fusarium lycopersici* in vivo. Experientia **12**, 181—182.

Kluepfel, D., 1957: Über die Biosynthese und die Umwandlungen der Fusarinsäure in Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **29**, 349—379.

Lakshmanan, M., 1955: Respiratory studies on vascular wilts. Paper of the Symposium on soil micro-organisms and plant well being. Proc. Indian Acad. Sci. **41 B**, 151—154.

Lakshminarayanan, K., 1955: Role of cystine chelation in the mechanism of *Fusarium* wilt of cotton. Experientia **11**, 388.

— —, and D. Subramanian, 1955: Is fusaric acid a vivo toxin? Nature **176**, 697—698.

Linskens, H. F., 1955: Der Einfluß der toxigenen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **23**, 89—107.

Mundkur, B. B., 1936: Resistance of American cotton to *Fusarium* wilt in India. Proc. Indian Acad. Sci. **3**, 498—502.

Naef-Roth, St., 1957: Über die parasitogenen und toxigenen Veränderungen der Atmungsintensität bei Tomaten. Z. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz **64**, 421—426.

— —, und P. Reusser, 1954: Über die Wirkung der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von Tomaten-Blattgewebe. Phytopath. Z. **22**, 281—287.

Reynolds, E. S., 1931: Studies on the physiology of plant diseases. Ann. Missouri Bot. Gard. **18**, 57—95.

Sadasivan, T. S., 1939: Succession of fungi decomposing wheat straw in different soils, with special reference to *Fusarium culmorum*. Ann. appl. Biol. **26**, 497—508.

— —, and R. Kalyanasundaram, 1956: Spectrochemical studies on the uptake of ions by plants I. The Lundegårdh flame technique of ash analysis of toxin/antibiotic invaded cotton plants. Proc. Indian Acad. Sci. **43 B**, 271—275.

— —, and L. Saraswathi-Devi, 1957: Vivotoxins and uptake of ions by plants. Curr. Sci. **26**, 74—75.

Sanwal, B. D., 1956: Investigations on the metabolism of *Fusarium lycopersici* Sacc. with the aid of radioactive carbon. Phytopath. Z. **25**, 333—384.

Saraswathi-Devi, L., 1956: Soil conditions and wilt diseases in plants: Essentiality of trace elements to some soil fungi. Doctoral Thesis, University of Madras.

Satyanarayana, G., 1955: Soil conditions and wilt of cotton with special reference to host physiology. Doctoral Thesis, University of Madras.

— —, and R. Kalyanasundaram, 1952: Soil conditions and root diseases V. Symptomatology of wilted cotton and red gram. Proc. Indian Acad. Sci. **36 B**, 54—58.

Subba Rao, N. S., 1954: Fluorescene phenomenon in the Fusariose wilt of cotton. J. Indian bot. Soc. **33**, 443—445.

— —, 1957: Studies in the genus *Fusarium* with special reference to toxicology. Doctoral Thesis, University of Madras.

Subramanian, C. V., 1950: Soil conditions and wilt diseases in plants with special reference to *Fusarium vasinfectum* on cotton. Proc. Indian Acad. Sci. **31 B**, 67—102.

Timonin, M. I., 1941: The interactions of higher plants and soil micro-organisms III. Effect of by-products of plant growth on activity of fungi and actinomycetes. Soil Sci. **52**, 395—413.

Uexküll, J. v., und G. Kriszat, 1956: Streifzüge durch die Umwelten von Tieren und Menschen. Bedeutungslehre. Rowohlt, Hamburg, 182 S.

Venkata Ram, C. S., 1956: Studies on the cellulolytic activity of *Fusaria* with reference to bacterial and other cellulose substrates. Proc. Nat. Inst. Sci. India **22 B**, 204—211.

— —, 1957: Production of ultra-violet induced mutations in *Fusarium vasinfectum* with special reference to fusaric acid synthesis. Proc. Nat. Inst. Sci. India **23 B**, 117—122.

Waggoner, P. E., and A. E. Dimond, 1952: Examination of the possibility of therapy of plant diseases with ionising radiation. Phytopathology **42**, 599—602.

Williams, R. T., 1949: Detoxication mechanisms. 2. Aufl. Wiley, New York, 288 S.

Zeevaart, J. A. D., 1955: Amino acids as carbon source for *Fusarium oxysporum* in the vessels of lupine plants. Tijdskr. over plantenziekt. **61**, 76—78.

University Botany Laboratory, Madras. 5. (India)

Thiamine, its intermediates and growth of *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae*[1])

By

S. Suryanarayanan

With 1 figure

Introduction

Thiamine and biotin heterotrophy, the latter usually accompanying the former is by far the most commonly met with in filamentous fungi. But not all thiamine heterotrophs require the intact thiamine molecule, being capable of completing the synthesis of thiamine, given only one of the two or both the thiamine components viz., thiazole and pyrimidine. While an exogenous supply of the intact thiamine molecule is required by *Phytophthora* spp. (Robbins, 1938), the synthesis of thiamine is completed by *Phycomyces blakesleeanus* when supplied with thiazole and pyrimidine (Schopfer and Jung, 1937; Robbins and Kavanagh, 1937; Sinclair, 1937). Fungi like *Pythium butleri, Sclerotium rolfsii,* (Robbins and Kavanagh, 1938 a & b) and *Tricholoma* spp. (Norkrans, 1950) require only pyrimidine. On the other hand, only thiazole is needed by *Mucor ramannianus* (Mueller and Schopfer, 1937). Thus, there are different degrees of thiamine heterotrophy ranging from the simple need for one of the thiamine fractions to an absolute demand for the intact thiamine molecule.

The present paper deals with the relative ability of different *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae* to complete thiamine synthesis from its moieties with special reference to the type of substrate sugar.

Material and Methods

Material: Different species and isolates of *Piricularia* viz., *Piricularia oryzae, P. setariae, P. zingiberi, Piricularia* spp., on *Eleusine coracana, Triticum vulgare* and *Brachiaria mutica* and *Sclerotium oryzae* were

[1]) Part of thesis approved for the degree of Doctor of Philosophy of the University of Madras, 1956.

used in this investigation. Among these, all the *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae* have been established to be heterotrophic to thiamine and biotin, and thiamine respectively. The optimal amounts of these vitamins on a sucrose — nitrate medium were found to be 1.0 μg. of thiamine and 0.01 μg. of biotin for all the *Piricularia* spp. and 1.0 μg. of thiamine for *Sclerotium oryzae* (SURYANARAYANAN, 1958).

Methods: The methods followed were essentially the same as described elsewhere (SURYANARAYANAN, 1958).

Basal medium: The basal medium consisted of: $NaNO_3$: 2.5 g., KH_2PO_4 : 1.0 g. $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$: 0.5 g., Sucrose : 5.0 g., and glass distilled water to make 1,000 ml., supplemented with 0.1 ml. of a trace element solution (ROBBINS, 1939 b) made up of H_3BO_3 : 5.7 mg.; $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$: 18.6 mg., $Fe(NH_4)(SO_4)_2 \cdot 18\ H_2O$: 173.0 mg., $MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$: 8.1 mg., $(NH_4)_2MoO_4$ (85 %) : 3.6 mg., and $ZnSO_4 \cdot H_2O$: 79.0 mg. in 100 ml. of glass distilled water. Aliquots of 25 ml. or 5 ml. of this medium were pipetted out into 250 ml. Pyrex Erlenmeyer flasks or test tubes as the case may be. Agar, when used was purified with 5 % aqueous pyridine (ROBBINS, 1938 a). The pH of the medium was adjusted to 6.0 before autoclaving with 6 N. NaOH or 6 N. HCl and sterilized at 15 lb. for 15 minutes.

Growth factors: Vitamins were added before autoclaving. Thiamine and biotin were supplied at 1.0 μg. and 0.01 μg. per flask which levels have been found to be the optimum for the fungi under investigation (SURYANARAYANAN, 1958). The thiamine moieties were added in equimolar proportions viz., 0.425 μg. thiazole (4-methyl-5(β-hydroxyethyl)-thiazole)[1]) and 0.626 μg. pyrimidine (2-amino-4-aminomethyl-5-pyrimidine)[1]).

Inoculation and incubation: Inoculation was done with a loopful of mycelial suspension following the method of WIKÉN et al. (1951). The cultures were incubated for 12 days at room temperature (29 ° ± 3 °C.). Growth determinations were made as described earlier (SURYANARAYANAN, 1958).

Experimental

1. Response of *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae* to the components of thiamine

The comparative ability of the different *Piricularia* spp. and *S. oryzae* to complete thiamine synthesis from its moieties was studied by adding to the basal medium thiazole and pyrimidine in equimolar proportions individually and in combination. Growth in these treatments was compared with that obtained with the intact thiamine molecule supplied at 1.0 μg.

[1]) Thanks are due to Ms. Hoffmann la Roche & Co., Basle, Switzerland, for their generous gift samples.

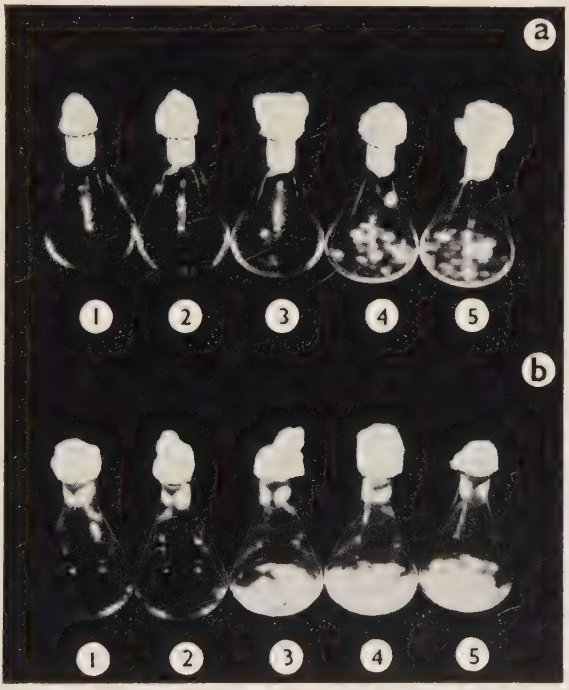
Table I

Response of *Piricularia* spp. and *S. oryzae* to thiamine and its intermediates

Treatments	*P. oryzae*	*P. setariae*	*P. zingiberi*	*Piricularia* sp. on *E. coracana*	*Piricularia* sp. on *T. vulgare*	*Piricularia* sp. on *B. mutica*	*S. oryzae*
	Mat weight in mg.						
1. Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2. Thiazole	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3. Pyrimidine	40.3	5.3	3.7	0.0	0.0	0.0	115.2
4. Thiazole + Pyrimidine	41.0	33.3	46.5	29.9	30.0	38.7	117.2
5. Thiamine	38.4	33.7	44.1	27.9	29.5	39.7	117.6

level. For *Piricularia* spp. biotin was also supplied uniformly to all the flasks at 0.01 μg. level except in the controls where no vitamins were added. The addition of biotin was omitted in the case of *S. oryzae* in view of its single deficiency to thiamine alone. The data are presented in Table I.

The results show that except *P. oryzae* the other *Piricularia* spp. are able to make as much growth as with thiamine only when both thiazole and pyrimidine are present in the medium. But *P. oryzae* and *S. oryzae* could grow equally well with pyrimidine alone as with the intact molecule of thiamine. This ability of *P. oryzae* to grow with pyrimidine alone was, however, evident only after 6 days (fig. b.), for, growth in the earlier stages of incubation was apparent only in the thiazole + pyrimidine and thiamine treatments (fig. a.).



Showing growth of *P. oryzae* 6 days following inoculation (a) and end of incubation (b). Note the almost negligible growth with pyrimidine in (a) and the full growth with this moiety in (b).

1. Control; 2. Thiazole; 3. Pyrimidine; 4. Thiazole + Pyrimidine; 5. Thiamine

2. Influence of the carbon source on the response of *P. oryzae*, *P. setariae*, *P. zingiberi* and *S. oryzae* to thiazole and pyrimidine

With a view to find out if the response of these fungi to the thiamine intermediates is independent of the type of substrate sugar, sucrose of the basal medium was replaced with d-xylose, glucose, fructose and maltose on an equivalent basis and the preceding experiment repeated. The results are presented in Table II.

Table II

Thiamine moieties and growth of *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae* with different carbon sources

Carbon source	Mat weight in mg.									
	Cont.	TZ	P	TZ+P	T	Cont.	TZ	P	TZ+P	T
	P. oryzae					*P. setariae*				
d-xylose	0.0	0.0	0.0	25.2	25.8	0.0	0.0	0.0	36.9	35.7
Glucose	0.0	0.0	9.3	24.1	23.7	0.0	0.0	0.0	19.9	20.8
Fructose	0.0	0.0	0.0	20.9	20.1	0.0	0.0	0.0	19.9	19.9
Maltose	0.0	0.0	22.1	21.5	21.0	0.0	0.0	3.7	17.3	17.5
	P. zingiberi					*S. oryzae*				
d-xylose	0.0	0.0	0.0	15.8	16.7	0.0	0.5	33.5	45.2	44.0
Glucose	0.0	0.0	5.0	41.7	41.8	0.0	0.5	78.9	78.8	78.9
Fructose	0.0	0.0	0.0	41.3	39.9	0.0	1.4	70.5	70.2	70.5
Maltose	0.0	0.0	7.9	14.4	13.9	0.0	1.7	72.5	70.5	68.7

Cont. : Control TZ : Thiazole P : Pyrimidine T : Thiamine

Table II shows that all the three species of *Piricularia* are unable to grow in the absence of thiamine or in the presence of thiazole alone. A combination of thiazole and pyrimidine is as effective as thiamine. The activity of pyrimidine alone varied, however, with the type of carbon source as follows:

P. oryzae: Pyrimidine as such could not promote any growth when the carbon source was xylose or fructose. But with maltose, the fungus made as much growth with this moiety as with thiazole + pyrimidine or thiamine. With glucose, however, only 39 % growth resulted when pyrimidine alone was present in the medium.

P. setariae: No growth occurred with pyrimidine alone with xylose, glucose or fructose. With maltose, 21 % growth resulted with pyrimidine.

P. zingiberi: This fungus made no growth with pyrimidine alone with xylose or fructose. But this fraction of thiamine could promote 12 % growth with glucose and 57 % growth with maltose.

S. oryzae: No growth occurred in the controls. When thiazole alone was present growth was negligible. With glucose, fructose or maltose, the

fungus could grow equally well either with pyrimidine, thiazole + pyrimidine or the whole molecule of thiamine. When xylose was the carbon source, only 76 % growth resulted with pyrimidine.

Discussion

It is well recognized that fungi differ in their abilities to complete thiamine synthesis from its two simpler fractions viz., thiazole and pyrimidine. Based on their synthetic capacities, the thiamine heterotrophs have been classed into four groups (Robbins, 1938 b; Hawker, 1950). They are: 1) those that need the intact thiamine molecule and are incapable of completing the synthesis of this vitamin from its two moieties as *Phytophthora* spp. (Robbins, 1938 a); 2) those that have the ability to synthesize thiamine when supplied with a mixture of its intermediates, like *Phycomyces blakesleeanus* (Bonner and Buchman, 1939; Robins and Kavanagh, 1937; Schopfer, 1937 a; Sinclair, 1937); 3) those that synthesize the thiazole fraction when supplied with the pyrimidine portion and complete the synthesis of thiamine e. g., *Rhodotorula rubra* (Schopfer, 1937 b, 1938), *Sclerotium rolfsii* (Robbins and Kavanagh, 1938 b) and *Pythium butleri* (Robbins and Kavanagh, 1938 a) and 4) those that are capable of synthesizing the pyrimidine portion given the thiazole fraction, thus, completing the synthesis of thiamine e. g., *Mucor ramannianus* (Mueller and Schopfer, 1937).

Viewed from this angle, the synthetic ability of the organisms under report towards thiamine is found to vary (Table I). Among the different isolates of *Piricularia* investigated, *P. oryzae* is distinct in completing the synthesis of thiamine from pyrimidine alone. But this synthetic ability of *P. oryzae* to complete thiamine synthesis from pyrimidine alone is, however, evident only after the 6th day following inoculation (fig. b). This is suggestive of the slower rate of thiazole synthesis by this organism in the earlier phases of its growth. *S. oryzae* has also similar capacities. The other species and isolates of *Piricularia*, on the other hand, have only the power to combine the two moieties to form thiamine.

Besides the above results, the response of these fungi to the thiamine fractions when sucrose of the basal medium was replaced with d-xylose, glucose, fructose, and maltose is of great interest (Table II). *S. oryzae* could complete the synthesis of thiamine from pyrimidine alone with all the four sugars, though its response to this fraction of thiamine was not quite complete with d-xylose. But the response of the three species of *Piricularia* to the thiamine moieties varied with the type of substrate sugar. An equimolar mixture of thiazole and pyrimidine was as effective as the whole molecule of thiamine for all the three species of *Piricularia* regardless of the type of sugar present in the medium. The activity of pyrimidine, however, appeared to depend upon the nature of carbohydrate used. In the case of *P. oryzae*, pyrimidine alone was ineffective when the carbon source happened to be

xylose or fructose. On the other hand, with maltose, pyrimidine as such was as good as a combination of both the moieties or thiamine and with glucose, this component promoted 39 % growth. For *P. setariae,* pyrimidine was ineffective when xylose, glucose, and fructose were used as carbon sources. Nevertheless, 21 % growth occurred with this fraction when maltose replaced the other sugars. The response of *P. zingiberi* to pyrimidine was very similar to that of *P. setariae* with xylose, glucose and fructose though growth amounting to 12 % occurred on the glucose medium. But with maltose, pyrimidine alone promoted 57 % growth.

That pyrimidine is thus equivalent to the full molecule of thiamine when the carbon source is maltose but not when it is glucose, is surprising in that it is rather generally agreed that a disaccharide like maltose, is first hydrolysed enzymatically and the products in this case would be glucose only. It must also be emphasized here that the observed effect is not due to a chance contamination of thiazole in the maltose used as evident from Table II. It is clear from the results that the maltose having been contaminated with thiazole, then *P. setariae* and *P. zingiberi* also should have made as much growth as with the full molecule of thiamine, when pyrimidine alone was added. This, however, was not the case and, therefore, it seems quite reasonable to assume that pyrimidine is fully effective only when it is supplied with the labile (γ) form of glucose which comes into existence, though temporarily, when disaccharides are hydrolysed. The only analogous instance, so far as the author is aware, is the case of *Rhodotorula sanniei* which is unable to synthesize pyrimidine using glucose as a source of carbon, but can readily do so if a small amount of glycerine is added (GÄUMANN, 1950).

Accordingly, the above results naturally present the problem of placing the three species of *Piricularia* into the four different categories of thiamine heterotrophy. *P. oryzae* requires only pyrimidine with sucrose or maltose. This fraction is still active, though to a lesser extent with glucose. But with xylose and fructose, the fungus needs both the fractions. *P. setariae* requires both the components of thiamine with xylose, glucose, sucrose and fructose. Its response to pyrimidine, though feeble, is still evident with maltose. *P. zingiberi* shows the need for both the moieties with xylose and fructose. With glucose, the activity of pyrimidine is still evident though to a slight extent. But with maltose pyrimidine is fairly active. This differential activity of pyrimidine with different sugars might also be attributed either to the inability of these organisms to synthesize the thiazole fraction (totally or in sufficient amounts) or to the lack of formation of the hypothetical enzymes as aneurinase/thiaminase (SCHOPFER, 1943) that are propounded to function in the condensation of the two fractions.

According to the present work, *P. setariae* and *P. zingiberi* may be tentatively placed in group 2, owing to their inability to grow with thiazole or pyrimidine alone with four out of the five sugars and in spite of their partial response to pyrimidine with maltose. The position of *P. oryzae* needs further consideration since pyrimidine is active for this fungus fully with sucrose

and maltose, partially with glucose and inactive with xylose and fructose. Likewise, *S. oryzae* can also be placed in group 2 though with xylose, pyrimidine is not completely effective.

Summary

The response of different species and isolates of *Piricularia* and *Sclerotium oryzae* to the thiamine fractions viz., thiazole and pyrimidine, has been dealt with in detail. The evidence is of interest that this response is sometimes dependent on the type of substrate sugar present in the medium. *S. oryzae* needs only the pyrimidine portion to complete the synthesis of thiamine regardless of the carbon source. *P. oryzae*, on the other hand, requires only the pyrimidine moiety when the sugar is sucrose or maltose. With xylose, glucose and fructose, however, this fungus needs both the fractions to form thiamine, whereas, the other isolates of *Piricularia* are, in general, capable of completing the synthesis of thiamine only in the presence of both thiazole and pyrimidine. The validity of grouping fungi into the four groups of Robbins (1938 b) according to the degree of their thiamine heterotrophy on any one single medium is discussed.

Zusammenfassung

Bei verschiedenen Arten und Stämmen von *Piricularia* und *Sclerotium oryzae* wurde das Ansprechen auf die Thiamin-Fraktionen Thiazol und Pyrimidin herausgearbeitet. Es konnte festgestellt werden, daß die Zuckerart, welche den Pilzen in der Nährlösung geboten wird, unter Umständen einen Einfluß auf die Thiaminsynthese haben kann. *Sclerotium oryzae* bedarf nur des Pyrimidins, um die Synthese des benötigten Thiamins — ohne Rücksicht auf die gebotenen Zucker — zu vollziehen. *Piricularia oryzae* anderseits vermag nur dann mit Pyrimidin allein auszukommen, wenn Saccharose oder Maltose anwesend ist. Mit Xylose, Glukose oder Fruktose muß dem Pilz sowohl Pyrimidin wie Thiazol zur Verfügung stehen. Andere Stämme von *Piricularia* benötigen stets beide Komponenten zur Thiaminsynthese. Der Wert der von Robbins (1938 b) durchgeführten Gruppierung dieser Pilze auf Grund ihrer Thiamin-Heterotrophie wird diskutiert.

Acknowledgements

I am deeply indebted to Prof. T. S. Sadasivan, D. Sc. (Lond.), F. N. I., F. A. Sc., Director, University Botany Laboratory, Madras, for suggesting the problem and the keen interest he took throughout this investigation and in the preparation of this paper. To Dr. C. V. Subramanian, D. Sc., F. A. Sc., Reader in Botany, University of Madras, my thanks are due for many helpful suggestions. The award of a studentship by the University of Madras and a scholarship by Govt. of India, during the tenures of which this investigation was carried out, is also gratefully acknowledged.

Literature cited

BONNER, J., and E. R. BUCHMAN, 1939: The synthesis and destruction of vitamin B_1 by *Phycomyces*. Proc. nat. Acad. Sci., Wash., **25**, 164—171.

GÄUMANN, E., 1950: Principles of Plant Infection. Crosby Lockwood and Son, Ltd. London.

HAWKER, L. E., 1950: Physiology of Fungi. University of London Press, Ltd. London.

MUELLER, W. F., et W. H. SCHOPFER, 1937: L'action de l'aneurine et de ses constituants sur *Mucor ramannianus* Moll. C. R. Acad. Sci., Paris, **205**, 687—689.

NORKRANS, B., 1950: Studies in growth and cellulolytic enzymes of *Tricholoma* with special reference to mycorrhiza formation. Symb. bot. upsaliens. **11**, 1—126.

ROBBINS, W. J., 1938 a: Thiamin and growth of species of *Phytophthora*. Bull. Torrey bot. Cl. **65**, 267—276.

— —, 1938 b: Organisms requiring vitamin B_1. Proc. nat. Acad. Sci., Wash., **24**, 53—56.

— —, 1939 a: Growth substances in agar. Amer. J. Bot. **26**, 772—778.

— —, 1939 b: Thiamine and symbiosis. Bull. Torrey bot. Cl. **66**, 569—572.

— —, and F. KAVANAGH, 1937: Intermediates of vitamin B_1 and growth of *Phycomyces*. Proc. nat. Acad. Sci., Wash., **23**, 499—502.

— —, and — —, 1938 a: Thiamin and growth of *Pythium butleri*. Bull. Torrey bot. Cl. **65**, 453—461.

— —, and — —, 1938 b: Vitamin B_1 or its intermediates and growth of certain fungi. Amer. J. Bot. **25**, 229—236.

* SCHOPFER, W. H., 1937 a: La spécificité d'action de l'aneurine sur *Phycomyces*. Le rôle des constituants de l'aneurine et des produits de substitution. Bull. Soc. Suisse **47**, 460—464.

— —, 1937 b: L'action des constituants de l'aneurine sur les levures (*Rhodotorula rubra* et *R. flava*). C. R. Acad. Sci., Paris, **205**, 445—447.

— —, 1938: La pyrimidine facteur de croissance de microorganisme (*Rhodotorula, Mucorinees, Dematium*). Protoplasma **31**, 105—135.

— —, 1943: Plants and Vitamins. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass., USA.

— —, and A. JUNG, 1937: L'action des produits de désintegration de l'aneurine sur *Phycomyces*. Le second facteur de croissance des Mucorinées. C. R. Acad. Sci., Paris, **204**, 1500—1503.

SINCLAIR, H. M., 1937: Growth factors for *Phycomyces*. Nature, Lond., **140**, 361.

SURYANARAYANAN, S., 1958: Growth factor requirements of *Piricularia* spp. and *Sclerotium oryzae*. (In Press.)

* WIKÉN, T., H. G. KELLER, C. L. SCHELLING, and A. STOCKLI, 1951: Über die Verwendung von Myzelsuspensionen als Impfmaterial in Wachstumsversuchen mit Pilzen. Experientia **7**, 237—239.

* Not seen in original.

Aus der Biologischen Zentralanstalt
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,
Institut für Phytopathologie Aschersleben
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

und

dem Justus v. Liebig-Institut für organische Chemie
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Prof. Dr. W. Langenbeck

Biochemische Untersuchungen über den Stoffwechsel gesunder und brennfleckenkranker Bohnen

I. Untersuchungen über Kohlenhydrate, Stickstoffverbindungen, Carbonsäuren und einige Oxydationsenzyme

Von

H. Herzmann

Mit 12 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — A. Material und Methoden. 1. Material. 2. Entnahme der Proben. 3. Analytische Methoden. a) Kohlenhydrate. I. Titrimetrische Bestimmung der Zucker. II. Papierchromatographie der Zucker. b) Stickstoff. I. Bestimmung des Gesamtstickstoffs. II. Trennung und Bestimmung des löslichen und des unlöslichen Stickstoffs. III. Papierchromatographie der Aminosäuren. c) Carbonsäuren. 4. Fermentmethoden. a) Phenoloxydase und Peroxydase; b) Ascorbinsäureoxydase; c) Katalase. — B. Ergebnisse der Analysen und Fermentuntersuchungen. 1. a) Kohlenhydrate; b) Stickstoff; c) Carbonsäuren. 2. a) Phenoloxydase und Peroxydase; b) Ascorbinsäureoxydase; c) Katalase. — Diskussion der Versuchsergebnisse. 1. Kohlenhydrate. 2. Stickstoff. 3. Carbonsäuren. 4. Fermentuntersuchungen. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Es war Aufgabe vorliegender Arbeit, ein bestimmtes Wirt-Parasitverhältnis biochemisch zu untersuchen. Als Objekt wurde die Brennfleckenkrankheit *(Colletotrichum lindemuthianum)* der Bohnen *(Phaseolus vulgaris* L.) gewählt, eine Krankheit, die biologisch und mikrobiologisch umfassend bearbeitet worden ist (Schaffnit und Böning 1925).

Zunächst erschien es nötig, einen Überblick über den Stoffwechsel der gesunden und der kranken Bohnen zu gewinnen. Es wurde deshalb von wichtigen Inhaltsstoffen und Stoffgruppen der Gehalt in der gesunden und in der kranken Pflanze ermittelt. An Hand der so gefundenen Konzentrationsunterschiede lassen sich unter Berücksichtigung der Entwicklung der Pflanze Schlüsse auf den Stoffwechsel ziehen.

Die Kohlenhydrate spielen als primäre Assimilationsprodukte eine große Rolle bei der Energieversorgung der Zelle und dienen als Lieferanten der Kohlenstoffskelette zur Biogenese der Aminosäuren, Eiweiße und Carbonsäuren. Weiterhin werden auch die wichtigen sekundären Pflanzenstoffe über mannigfaltige Zwischenstufen aus den Kohlenhydraten gebildet. Wir wollten deshalb den Gehalt und die Verteilung der Zucker in den gesunden und den kranken Pflanzen ermitteln. — Der Stoffwechsel der Stickstoffverbindungen nimmt eine ähnlich beherrschende Position ein wie der der Kohlenhydrate. Es war deshalb geplant, den Gehalt an löslichen und unlöslichen Stickstoffverbindungen und papierchromatographisch die Verteilung der freien Aminosäuren zu ermitteln. — Weiterhin wollten wir die Säuren des Krebszyklus in die Untersuchungen einbeziehen, da auch diese ein wichtiges Glied des Grundstoffwechsels der Pflanze sind. — Da es sich bei der Melanogenese primär um Oxydationsprozesse handelt, lag es nahe, noch die Oxydationsfermente Phenoloxydase, Peroxydase, Ascorbinsäureoxydase und Katalase in die Untersuchungen einzubeziehen. Wir dehnten die Enzymbestimmungen über die ganze Vegetationszeit aus und hofften, aus den Befunden Schlüsse über den bei kranken Pflanzen vorliegenden Weg der Endoxydation ziehen zu können.

In einer weiteren Arbeit soll über Untersuchungen einer Anzahl von Verbindungstypen aus der großen Gruppe der sekundären Pflanzenstoffe berichtet werden. Es war hier besonders an die Phenylpropanabkömmlinge, Phenole und Anthoxanthine gedacht. Die Verbreitung dieser Verbindungen, die in den vegetativen Organen stets nur in kleinen Mengen enthalten sind, ist erst durch die modernen biochemischen Methoden erfaßbar geworden. Über die Funktion der C_6 - C_3 - Verbindungen innerhalb der Pflanze ist Genaueres erst in den letzten Jahren bekanntgeworden. Man hat bewiesen, daß sie u. a. als Zwischenprodukte bei der Biogenese der Pflanzenfarbstoffe und des Lignins mitwirken. Wir planten außerdem noch Lignin- und Anthoxanthinbestimmungen, um auch über die biogenetischen Folge- und Endprodukte eine Übersicht zu erhalten. — Eine nähere Untersuchung dieser sekundären Pflanzenstoffe lag schließlich noch wegen der Genese der Brennflecke nahe. Bei vielen fermentativen oder nichtfermentativen Verfärbungen pflanzlichen und auch tierischen Gewebes wird angenommen, daß es sich um Oxydationsprodukte von Stoffen mit phenolischen Gruppen handelt. Während beim Menschen und beim Säugetier Tyrosin als Grundkörper der Melanogenese betrachtet wird, sind bei der Pflanze mehrere Möglichkeiten gegeben. Häufig werden Chlorogensäure und Kaffeesäure für Verbräunungen verantwortlich gemacht. Wir wollten deshalb versuchen, mögliche Vor- und Zwischenstufen der Melaninbildung zu erfassen.

A. MATERIAL UND METHODEN

1. Material

Als Versuchsmaterial dienten Buschbohnen (*Phaseolus vulgaris* L.) der Sorte „Kora" der Deutschen Saatzucht-Gesellschaft Aschersleben. Die kranken Pflanzen wurden aus natürlich infiziertem Saatgut angezogen. Vor dem Auslegen wurden die Samen zwei Tage im Brutschrank bei 30 °C auf feuchtem Sand vorgekeimt, wobei die infizierten Samen nur zu etwa 70 % keimten. Die gekeimten Samen wurden in kleine Papptöpfe ausgelegt und unter Glas bis zur Entfaltung der Keimblätter belassen; dann wurden sie mit 40 × 60 cm weiten Abständen ausgepflanzt. Die kranken Keimlinge wurden enger, nämlich auf 25 × 40 cm gepflanzt. Die größeren Abstände der gesunden Pflanzen sollten eventuelle Infektionen erschweren, während der dichtere Bestand der kranken Pflanzen eine gleichmäßigere Infektion fördern sollte. Pflanzen, die im Gewächshaus angezogen wurden, konnten nicht verwendet werden, da ihr Stoffwechsel stark von dem des im Freiland aufgewachsenen Materials abweicht.

2. Entnahme der Proben

Die Untersuchungen begannen nach der Entfaltung der Primärblätter und wurden während der ganzen Vegetationsperiode alle 8 bis 14 Tage wiederholt. Vergleichende Untersuchungen der ganzen Pflanzen führen zu keinen brauchbaren Ergebnissen, da sich die Unterschiede verwischen. Wir zerlegten deshalb die Pflanzen in folgende Teile: Stengel, Primärblätter, Fiederblätter und Früchte. Alle Proben wurden stets zwischen 7.30 und 8.30 Uhr genommen. Für jede Untersuchung wurden, um die Schwankungsbreite des Materials auszugleichen, meistens zehn, mindestens jedoch fünf Pflanzen verwendet. Die Pflanzen wurden mit Wasser von der anhaftenden Erde befreit, zwischen Filterpapier getrocknet und in die für die Analyse beziehungsweise die Bereitung der Extrakte nötigen Teile zerlegt und gewogen. Die weitere Verarbeitung richtete sich danach, welche Stoffgruppe analysiert werden sollte und wird an entsprechender Stelle beschrieben.

3. Analytische Methoden

a) Kohlenhydrate

I. Titrimetrische Bestimmung der reduzierenden Zucker

Der Zuckergehalt wurde nach Hagedorn und Jensen, modifiziert nach Fujita und Iwatake (1931) bestimmt.

Die abgewogene Menge frischen Pflanzenmaterials (10 bis 20 g) wurde mit der neunfachen Menge aqua dest., das vorher mit 0,01 n Natronlauge auf pH 8 gebracht worden war, homogenisiert. Als Homogenisator diente die Akra-Küchenmaschine (VEB Kyffhäuser-Hütte Artern) mit einer Tourenzahl von 8000 bis 12 000 U/min. Aliquote Teile dieses Extraktes wurden entnommen und auf 50 ml aufgefüllt (Lösung A). 10 ml davon wurden zehn Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt und dann mit 0,5 ml 30 %iger Bleiacetatlösung behandelt. Dadurch wurden Eiweiße und andere störende Stoffe entfernt. Der Extrakt wurde nach fünf Minuten mit 1 ml kaltgesättigter Natriumsulfatlösung versetzt und auf 25 ml aufgefüllt. Nach kurzem Absetzen war die Probe zur Zuckerbestimmung bereit. Für jeden Zuckerwert wurden drei Parallelbestimmungen und zwei Blindproben gemacht. Dazu wurde 1 ml des enteiweißten Extraktes (bei der Blindprobe 1 ml aqua dest.) mit 2 ml Kaliumferricyanidlösung (1,64 g/l Natriumboratpuffer pH 11) und 10 ml aqua dest. 15 Minuten im Wasserbad erhitzt, abgekühlt und

mit einer frisch eingestellten 0,005 n Natriumthiosulfatlösung titriert. Unmittelbar vorher gaben wir 3 ml Kaliumjodidlösung (25 g Kaliumjodid, 50 g Zinksulfat und 150 g Natriumchlorid in 1 l aqua dest.) und 2 ml 6 %ige Salzsäure zu. Durch einige Tropfen Stärkelösung (1 %) ließ sich der Umschlagspunkt besser erkennen. Die Berechnung erfolgte dann nach der Formel:

$$\text{mg Zucker in 50 ml Lösung A} = (\text{Blindwert} - x) \times 23{,}4 \times f,$$

wobei x die titrierte Anzahl ml Thiosulfatlösung und f deren Faktor angibt.

II. Papierchromatographie der Zucker

Wir gingen hier von der Lösung A aus und chromatographierten 100 — 300 μl aufsteigend nach MATTHIAS (1954) in Butanol : Aceton : Wasser = 2 : 7 : 1 (BAW). Um gute Trennungen zu erzielen, ließen wir die Chromatogramme dreimal mit zwei Zwischentrocknungen laufen. Als Papier verwendeten wir hier und bei allen anderen Untersuchungen, wenn nicht besonders angegeben, Schleicher und Schüll Nr. 2043 b. Die Chromatogramme wurden mit Anilinphthalat (1,66 g Phthalsäure und 0,93 g Anilin in 100 ml wassergesättigtem Butanol gelöst [PARTRIDGE, 1949]) bei 110 bis 115 °C ent-

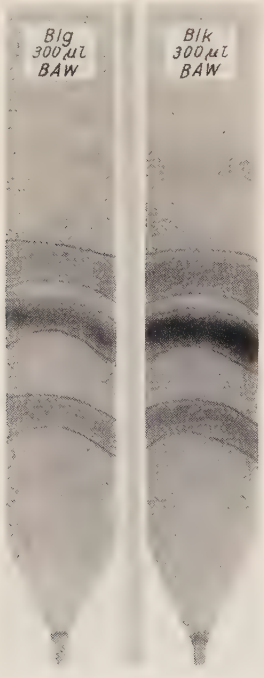


Abb. 1 (links). Zucker, links gesunde Fiederblätter, rechts kranke Fiederblätter; von oben nach unten: Fruktose, Glukose, Saccharose

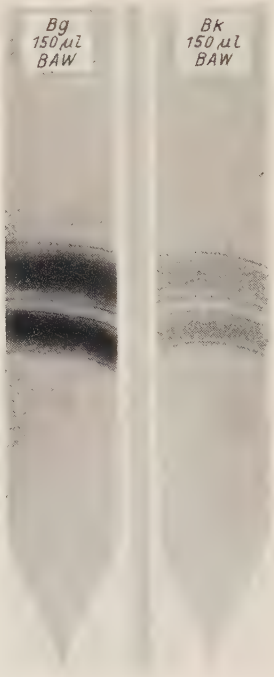


Abb. 2 (rechts). Zucker, links gesunde Früchte, rechts kranke Früchte; von oben nach unten: Fruktose, Glukose

wickelt. Es ergeben sich rotbraune bis olivbraune Streifen. Die Identifizierung der erhaltenen Flecke geschah durch Zusatz von Zuckern zu den Extrakten und Vergleich der Rf-Werte.

b) Stickstoff

I. Bestimmung des Gesamtstickstoffs

Den Gesamtstickstoff bestimmten wir nach Kjeldahl in der Mikro-Apparatur von Parnas-Wagner nach Humphries (1956). Das Ammoniak wurde allerdings nicht in Borsäure, sondern in 0,1 n Salzsäure aufgefangen und mit 0,1 n Natronlauge zurücktitriert. Für jede Bestimmung wurden 0,5 bis 1,0 g Material eingesetzt.

II. Trennung und Bestimmung des löslichen und des unlöslichen Stickstoffs

Zur Trennung wurde eine abgewogene Menge zerkleinerten, frischen Materials (5 bis 10 g) mit der zehnfachen Menge Methanol eineinhalb Stunden am Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen wurde das Unlösliche vom Extrakt abgenutscht und mehrmals mit Methanol gewaschen. Filtrat und Waschflüssigkeit wurden vereinigt, auf ein bestimmtes Volumen gebracht, aliquote Teile entnommen, eingeengt und der Stickstoff, wie beschrieben, bestimmt. Das nach der Trennung zurückbleibende Unlösliche wurde getrocknet, gewogen und zur Zersetzung und Bestimmung des Stickstoffs 50 bis 100 mg verwendet.

III. Papierchromatographie der Aminosäuren

Zur Herstellung der Extrakte wurde eine abgewogene Menge des Pflanzenmaterials mit der vierfachen Menge 70-prozentigen Methanols homogenisiert und anschließend 5 Minuten gekocht. Nach Abkühlen und Zentrifugieren wurde der Überstand auf das fünffache Volumen des Gewichts der Einwaage aufgefüllt. Auf ein zweidimensionales Chromatogramm trugen wir 250 μl auf. Als Lösungsmittel verwendeten wir in der ersten Phase n-Propanol : Wasser = 19 : 6 und in der zweiten Phenol : Wasser = 4 : 1 (Wolffgang und Mothes 1953). Auf die Bögen, die eine Größe von 20 × 19,3 cm hatten, wurde an zwei Seiten ein Rand von je 1,5 cm Breite eingezeichnet; auf dem Schnittpunkt der Linien wurde die Probe aufgetragen. Die Laufzeit betrug 8 bis 10 Stunden. Anschließend wurde bei 40 bis 60 °C getrocknet, mit 0,1 %iger azetonischer Ninhydrinlösung durch Tauchen und nachfolgendem Erwärmen im Trockenschrank bei 80 bis 100 °C entwickelt, bis sich die gefärbten Flecke zeigten. Zur Identifizierung bedienten wir uns der vergleichenden Papierchromatographie. Lösungen von Aminosäuren wurden den Proben zugesetzt und an der Verstärkung der Flecke die Position der Substanzen erkannt.

c) Carbonsäuren

Die Prüfung auf Carbonsäuren geschah durch zweidimensionale Papierchromatographie. Die Herstellung der Extrakte entspricht der bei der Pa-

pierchromatographie der Aminosäuren angegebenen Vorschrift, es wurden 300 μl aufgetragen. Als Lösungsmittel verwendeten wir Äthanol-Ammoniak-Wasser = 80 : 4 : 16 und Butanol-Ameisensäure-Wasser = 77 : 12 : 11 (WOLFFGANG 1957). Die Chromatogramme wurden nach dem Trocknen noch 15 Stunden gelüftet und dann nach Besprühen mit Anilin-Glukose-Butanol-Äthanol-Wasser = 2 : 2 : 60 : 20 : 20 bei 120 °C 15 Minuten entwickelt (HEITEFUSS 1957). Die braunen Flecke sind sehr beständig.

4. Fermentmethoden

a) Phenoloxydase und Peroxydase

Da Pflanzenextrakte noch andere Substanzen enthalten, die die Reaktion zwischen Enzym und Substrat stören können, gingen wir bei den Bestimmungen von Enzympräparaten aus. Da in diesen Präparaten das Enzym keineswegs im absolut reinen Zustand vorliegt, ist es nicht angängig, die Bestimmungen gewichtsmäßig vorzunehmen. Vielmehr zieht man es auch aus praktischen Gründen allgemein vor, die spezifische Aktivität einer Fermentpräparation als Maß ihres Enzymgehaltes zu benutzen, wobei naturgemäß die Bedingungen der Aktivitätsbestimmung genau festgelegt sein müssen (HOFFMANN-OSTENHOF 1954).

5 bis 20 g Pflanzenmaterial wurden mit der fünffachen Menge 0,15 m Phosphatpuffer vom pH 7,6 bei 0 bis 5 °C homogenisiert. Nach fünf Minuten konnte, wie mikroskopische Untersuchungen zeigten, keine intakte Zelle mehr festgestellt werden. Durch Zugabe des gleichen Volumens Methanol wurde der Extrakt geklärt. Bei 5000 U/min = 2500 g wurde von Zelltrümmern und Stärke abzentrifugiert. Dem klaren, schwach grün gefärbten Überstand wurde unter ständigem Rühren zunächst ganz langsam, später schneller die fünffache Menge Aceton zugesetzt. Die Endkonzentration an Aceton bezogen auf Wasser entspricht 10 : 1. Es wurde dann einige Male kräftig durchgeschüttelt. Gute Präparate pflegten sich schnell wieder abzusetzen. Danach wurde durch eine G-4-Fritte abgesaugt, wobei zum Schluß Äther zugefügt und damit kurz nachgewaschen wurde. Der letzte Ätheranteil lief ohne Absaugen hindurch oder verdunstete. Im evakuierten Exsikkator wurden die Präparate schnell staubtrocken. Sie waren elfenbeinfarbig, leicht löslich in Wasser oder Puffer und ohne nennenswerten Aktivitätsabfall im dunklen Vakuumexsikkator monatelang haltbar.

Zur Bestimmung der Aktivität der Enzyme wurde das gesamte Präparat oder ein Teil davon gelöst, so daß auf 1 g Pflanzenmateriel 10 ml Wasser kamen. Von dieser Lösung wurden 10 ml für einen Versuch verwendet. Wir bestimmten die Aktivität der Enzyme kolorimetrisch und verwendeten als Substrat Pyrogallol nach WILLSTÄTTER und STOLL (1918). 1,25 g Pyrogallol (resublimiert) wurden in 450 ml frisch destilliertem Wasser und 50 ml 0,15 m Phosphatpuffer von pH = 6,6 gelöst und 2,5 ml 0,5 %iges H_2O_2 (ohne Stabilisator) und 10 ml Enzymlösung zugegeben. Das pH-Optimum liegt für die Peroxydase bei 6,4 und für die Phenoloxydase bei 6,8. Die Temperatur soll 20 ± 0,5 °C betragen. Wir leiteten dann für zehn Mi-

nuten einen feinverteilten Luftstrom durch das Reaktionsgefäß und bestimmten auf diese Weise Peroxydase und Phenoloxydase zusammen. Die Reaktion wurde mit 20 ml halbkonzentrierter Schwefelsäure abgestoppt und die gelborange gefärbte Flüssigkeit sofort ausgeäthert, der Extrakt auf 250 ml aufgefüllt und die Extinktion im Pulfrich-Photometer bei 420 mμ bestimmt. Parallel dazu wurde in einem Ansatz ohne Wasserstoffperoxyd die Aktivität der Phenoloxydase bestimmt. Aus der Differenz beider Extinktionen ergibt sich die von der Peroxydase verursachte Färbung. An Hand einer mit reinem Purpurogallin aufgestellten Eichkurve errechneten wir die Purpurogallinmenge, die durch die Peroxydase bzw. Phenoloxydase von einem Gramm Pflanzenmaterial gebildet wurde. Vor der Bestimmung der Enzym-Aktivitäten von Kulturen des Parasiten auf flüssigem Nährboden (Czapek-Dox) filtrierten wir durch eine G-4-Fritte das Myzel vom Nährmedium ab. Die Enzympräparate stellten wir auf die gleiche Weise, wie oben beschrieben, her, nur fällten wir mit der zehnfachen Menge Aceton. Die Endkonzentration an Aceton ist dann die gleiche, da der Methanolzusatz fehlt. — Das Myzel wurde in einer 0,15 m Phosphatpufferlösung (pH = 6,6) homogenisiert und wie das Pflanzenmaterial weiterbearbeitet.

b) Ascorbinsäureoxydase

Die Bestimmung der Ascorbinsäureoxydase wurde in Anlehnung an die von Hassebrauk und Kaul (1957) gegebene Vorschrift ausgeführt und basiert auf der Ascorbinsäure-Bestimmungsmethode von Tillmans (1927).

Da nach Huszak (1937) das Enzym äußerst empfindlich gegen organische Lösungsmittel ist, waren wir gezwungen, von wäßrigen Extrakten auszugehen. 5 bis 10 g Pflanzenmaterial wurden mit der zehnfachen Menge kalter 0,15 m Phosphatpufferlösung (5 °C) vom pH 5,9 im gekühlten Homogenisator 5 Minuten zerkleinert. Danach wurde 10 Minuten bei 5000 U/min = 2500 g zentrifugiert und so mit Puffer verdünnt, daß 10 ml Extrakt 1 g Pflanzenmaterial entsprachen. 10 ml einer 0,025%igen l-Ascorbinsäurelösung ließen wir 30 Minuten unter Belüftung mit 10 ml des Enzymextraktes reagieren und stoppten dann durch 10 ml Metaphosphorsäure (5 %) ab. Es wurde mit 0,001 n Dichlorphenolindophenollösung (DIP) zurücktitriert, deren Titer gegen die als Substrat benutzte Ascorbinsäurelösung eingestellt war. Um Fehler durch pseudoenzymatische Reaktionen auszuschalten, wurde der Versuch mit durch Kochen abgetötetem Enzymextrakt wiederholt. Die Differenz der in beiden Versuchen ermittelten Menge DIP entspricht der Ascorbinsäureoxydaseaktivität und wird in Prozenten oxydierter Ascorbinsäure angegeben.

c) Katalase

Für die Bestimmung der katalatischen Aktivität benutzten wir die durch Acetonfällung hergestellten Enzympräparate. Pflanzenextrakte können zu großen Fehlerquellen bei der manganometrischen Titration Anlaß geben. Wir bedienten uns im Prinzip der von v. Euler, Myrbäck und Myrbäck (1930), und Langenbeck, Hutschenreuter und Rottig (1932) angegebenen Me-

thode. Für jede Katalasebestimmung wurde eine 1 g frischen Pflanzenmaterials entsprechende Menge des Enzympräparates benutzt. Jeder Ansatz bestand aus:

20 ml 0,1 n Wasserstoffperoxyd (ohne Stabilisator)
20 ml 0,15 m Phosphatpuffer pH 7,2
50 ml destilliertem Wasser und
10 ml Enzymlösung in Wasser (= 1 g Pflanzenmaterial)

Alle Komponenten wurden vorher auf die Reaktionstemperatur von 20 ± 0,5 °C gebracht. Proben wurden sofort nach Mischung des Ansatzes (Zeit 0) sowie nach 2, 5, 7, 10, 20 und 30 Minuten entnommen und die Reaktion jeweils durch Einfließenlassen in 10 ml 5 n Schwefelsäure abgestoppt. Während des Versuches wurde der Reaktionskolben gut geschüttelt. Der Verbrauch an Wasserstoffperoxyd wurde durch Titration mit 0,1 n Permanganat ermittelt.

B. ERGEBNISSE DER ANALYSEN UND FERMENTUNTERSUCHUNGEN

1. a) Kohlenhydrate

Zur quantitativen Bestimmung der reduzierenden Zucker, die viermal während der Vegetationsperiode vorgenommen wurde, untersuchten wir Primärblätter, Fiederblätter, Stengel und Früchte getrennt. Es ergab sich, daß Blätter infizierter Pflanzen stets höhere Zuckergehalte als die gesunder hatten. Dagegen enthalten Stengel und Früchte kranker Pflanzen weniger Zukker als die gesunder (Tab. 1).

Tabelle 1
Quantitative Zuckerbestimmungen
(mg/g Frischgewicht)

	Primärblätter		Fiederblätter		Stengel		Früchte	
	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank
1. 7. 1957	4,2	5,1	—	—	3,6	2,7	—	—
18. 7. 1957	2,1	2,5	2,8	3,1	3,8	1,4	20,6	18,2
30. 7. 1957	2,4	3,0	2,6	2,9	3,5	2,7	16,8	14,6
12. 8. 1957	—	—	3,5	6,1	4,2	4,0	17,1	16,4

Da wir in allen Organen der kranken Pflanzen geringere Zuckergehalte als in gesunden erwartet hatten, überraschte uns dieses Ergebnis zunächst. Die papierchromatographischen Untersuchungen bestätigten jedoch unsere Befunde (Abb. 1 und 2). Die Chromatogramme zeigen, daß keine qualitativen Veränderungen in der kranken Pflanze erfolgen, sondern alle Zucker gleichmäßig stark zu- oder abnehmen.

b) Stickstoff

Blätter infizierter Pflanzen enthalten stets sowohl mehr Gesamtstickstoff als auch löslichen und unlöslichen Stickstoff.

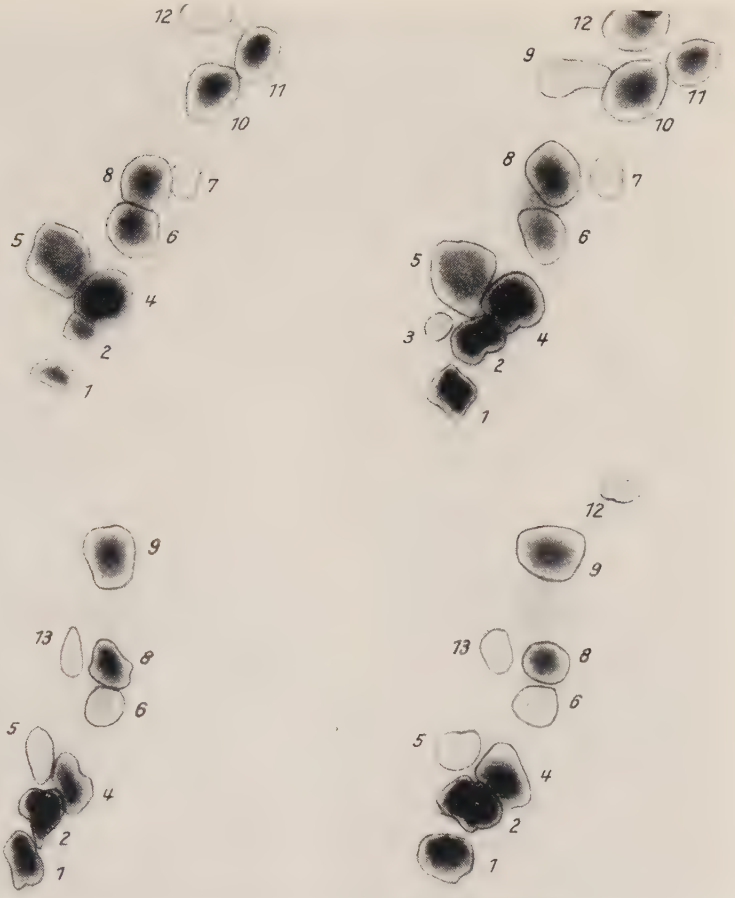


Abb. 3 (oben). Aminosäuren, junge Primärblätter, links gesund, rechts krank; 1 Asparaginsäure, 2 Glutaminsäure, 3 Cystin, 4 Glykokoll/Serin, 5 Asparagin, 6 Threonin, 7 Tyrosin, 8 Alanin, 9 γ-Aminobuttersäure, 10 Methionin/Valin, 11 Phenylalanin/Leucin, 12 Pipecolinsäure

Abb. 4 (unten). Aminosäuren, ältere Primärblätter, links gesund, rechts krank; 1 Asparaginsäure, 2 Glutaminsäure, 4 Glykokoll/Serin, 5 Asparagin, 6 Threonin, 8 Alanin, 9 γ-Aminobuttersäure, 12 Pipecolinsäure, 13 Glutamin

Bei den Durchschnittswerten liegt der Gesamtstickstoffgehalt der kranken Blätter um 13,5 % höher als der der gesunden. Die entsprechenden Werte für den löslichen und den unlöslichen Anteil belaufen sich auf 29,3 und 11,8 %. Danach sind bei den kranken Blättern die löslichen Stickstoffverbindungen besonders stark angewachsen. Diese Fraktion besteht zum größten Teil aus Aminosäuren. Es wurden deshalb Extrakte gesunder und kranker Blätter papierchromatographisch verglichen (s. Abb. 3 und 4). Insgesamt konnten folgende Aminosäuren festgestellt werden: Asparaginsäure, Glutaminsäure, Cystin, die Gruppe Glykokoll/Serin, Asparagin, Threonin, Gluta-

Tabelle 2
Quantitative Stickstoffbestimmungen
(mg N/g Frischgewicht)

	Gesamt-N		löslicher N		unlöslicher N	
	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank
13. 6. 1957	6,84	8,31	0,73	1,02	6,11	7,29
2. 7. 1957	7,19	7,25	0,55	0,59	6,64	6,66
30. 7. 1957	6,30	7,04	0,77	0,92	5,53	6,12
17. 8. 1957	5,02	6,20	0,57	0,86	4,45	5,34
	25,35	28,80	2,62	3,39	22,73	25,41
Mittelwert	6,34	7,20	0,655	0,847	5,68	6,35

min, Alanin, γ-Aminobuttersäure, die Gruppen Methionin/Valin und Phenylalanin/Leucin sowie Pipecolinsäure. Besonders auffällig ist in den kranken Bohnenblättern die starke Zunahme der Asparagin- und Glutaminsäure und des Asparagins, während die Pipecolinsäure in gesunden Blättern wenig oder nicht nachzuweisen war. Die Früchte enthalten mehr freie Aminosäuren als die Blätter (s. Abb. 5). Aus den Chromatogrammen geht weiterhin hervor, daß in den kranken Früchten qualitativ und quantitativ erheblich weniger Aminosäuren enthalten sind als in den gesunden. So verringerte sich der Gehalt an Alanin, Asparagin- und Glutaminsäure bedeutend, während z. B. Methionin/Valin gar nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Demgegenüber nimmt hier der Gehalt an Asparagin noch zu. Insgesamt können wir feststellen, daß in den kranken Blättern der Gehalt an Aminosäuren höher, in den kranken Früchten dagegen niedriger ist. Auch hier liegt also ein unterschiedliches Verhalten der kranken Pflanzenteile vor, wie wir es schon bei den Zuckern beobachten konnten.

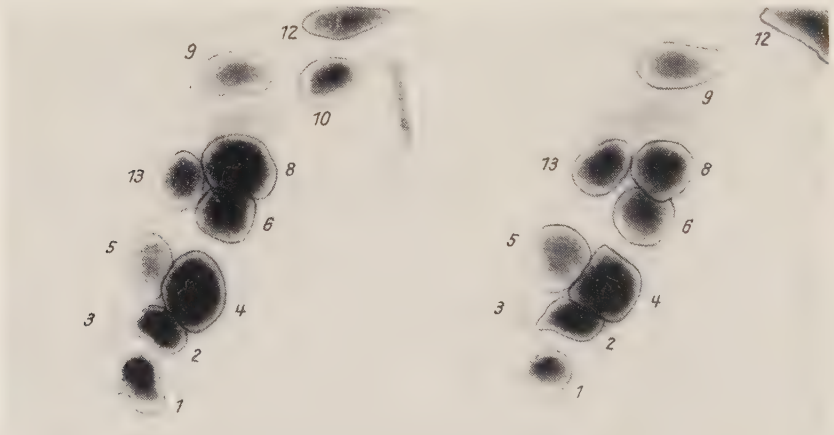


Abb. 5. Aminosäuren, Früchte, links gesund, rechts krank; 1 Asparaginsäure, 2 Glutaminsäure, 3 Cystin, 4 Glykokoll/Serin, 5 Asparagin, 6 Threonin, 8 Alanin, 9 γ-Aminobuttersäure, 10 Methionin/Valin, 12 Pipecolinsäure, 13 Glutamin

c) Carbonsäuren

Durch zweidimensionale Papierchromatographie stellten wir fest, daß zwischen gesunden und kranken Blättern qualitativ keine und quantitativ höchstens geringe Unterschiede bestehen. Beide enthalten Citronen-, Äpfel-, Bernstein- und Shikimisäure, wobei die beiden ersteren den Hauptbestandteil stellen (s. Abb. 6). In den Früchten liegen dagegen unterschiedliche Verhältnisse vor; in gesunden Früchten fanden wir ziemlich große Mengen von Äpfelsäure, während kranke Früchte zusätzlich noch Citronensäure enthalten (s. Abb. 7).

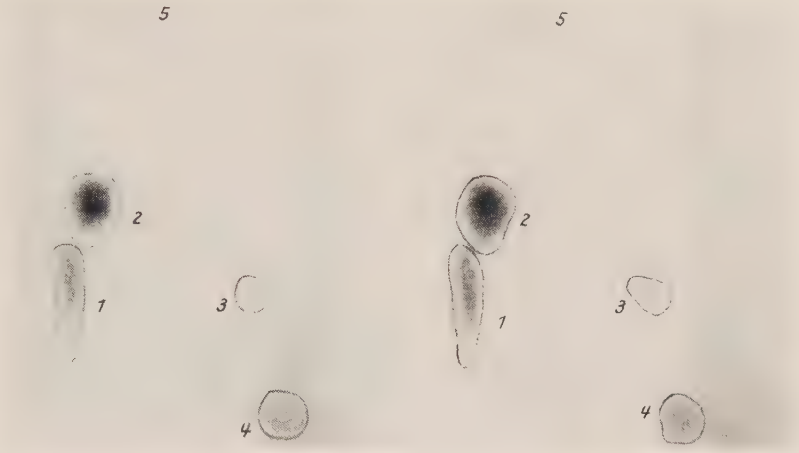


Abb. 6. Carbonsäuren, Fiederblätter, links gesund, rechts krank; 1 Citronensäure, 2 Äpfelsäure, 3 Shikimisäure, 4 Chlorid, 5 Bernsteinsäure

Abb. 7. Carbonsäuren, Früchte, links gesund, rechts krank; 1 Citronensäure, 2 Äpfelsäure

2. a) Phenoloxydase und Peroxydase

Vorversuche hatten gezeigt, daß die kranken Pflanzen immer über aktivere Phenoloxydase und Peroxydase verfügen. Sie hatten jedoch gleichfalls erkennen lassen, daß die Enzymaktivitäten während der Vegetationszeit

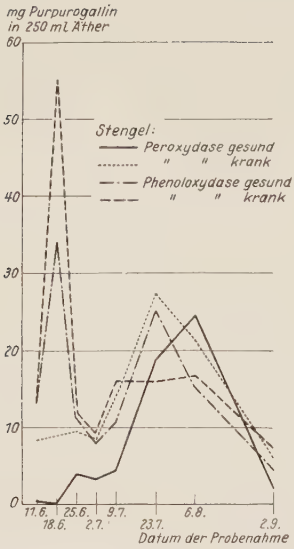


Abb. 8. Aktivitäten der Phenoloxydase und Peroxydase (Stempel)

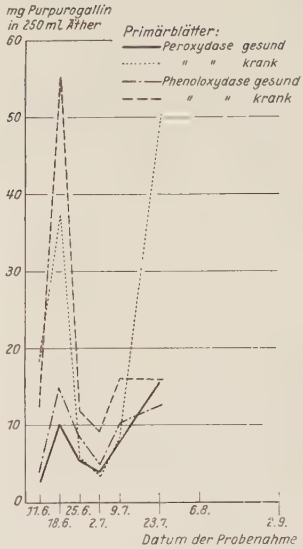


Abb. 9. Aktivitäten der Phenoloxydase und Peroxydase (Primärblätter)

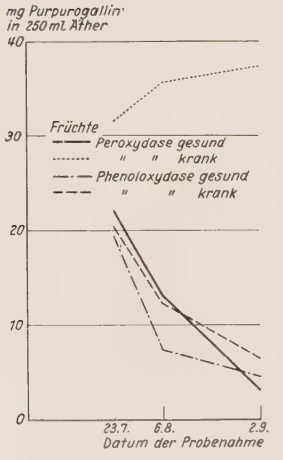


Abb. 10. Aktivitäten der Phenoloxydase und Peroxydase (Früchte)

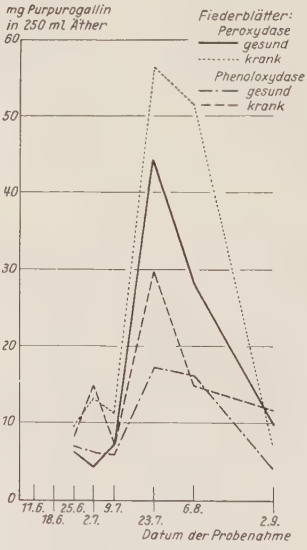


Abb. 11. Aktivitäten der Phenoloxydase und Peroxydase (Fiederblätter)

stark schwankten und daß sie in der Pflanze nicht gleichmäßig verteilt sind. Blätter, Stengel und Früchte der Pflanze zeigten große Unterschiede in der Peroxydase- und Phenoloxydase-Aktivität. Deshalb wurden die beiden Fermente im Laufe der Vegetationsperiode achtmal an den einzelnen Teilen

der Pflanzen bestimmt. Die Untersuchungen begannen nach der Entfaltung der Primärblätter (11. Juni 1957) und umfaßten diese sowie die Stengel. Eine Woche später (18. Juni) wiederholten wir diese Bestimmungen. Inzwischen waren auch die Fiederblätter ausgebildet; sie wurden vom dritten Termin (25. Juni) ab mit untersucht (Abb. 8 bis 11).

Wir nahmen die Bestimmungen zunächst wöchentlich vor. Nachdem sich die vegetative Entwicklung der Pflanzen verlangsamt hatte, untersuchten wir alle 14 Tage (23. Juli und 6. August) und ließen dann bis zum letzten Termin vier Wochen verstreichen (2. September). Vom 23. Juli ab standen uns auch die Früchte zur Verfügung. Bei den beiden letzten Durchgängen konnten wir keine intakten Primärblätter mehr auffinden. Es lassen sich zwei ausgeprägte Aktivitäts-Maxima erkennen (18. Juni und 23. Juli), zwischen denen ein Minimum (2. Juli) liegt. Die vegetative Entwicklung am 18. Juni war durch vollausgebildete Primärblätter und in der Entwicklung begriffene Fiederblätter gekennzeichnet. Cotyledonen waren noch zum Teil vorhanden und wurden vor der Bestimmung entfernt. Das Minimum, das sich schon am 25. Juni ankündigte, ist durch die Anlage der generativen Organe charakterisiert. Nach Abschluß der Blühperiode beginnt die Aktivität erst langsam (9. Juli), dann schnell (23. Juli) anzusteigen. Das Wachstum der Früchte fällt in diese Zeit.

Zu Beginn der Vegetationsperiode liegt die Aktivität der Phenoloxydase stets über der der Peroxydase. Erst von der Mitte der Vegetationszeit ab, nach dem Fruchtansatz, nimmt die peroxydatische Aktivität stärker zu und überholt die phenoloxydatische. — Insgesamt gesehen sind die Enzyme der kranken Pflanzen während der ganzen Untersuchungszeit aktiver als die der gesunden. Wenige Ausnahmen können das Bild nicht grundsätzlich ändern. Während des Minimums, Anfang Juli, sind die Differenzen in der Aktivität zwischen gesunden und kranken vergleichsweise gering. Dagegen sind sie während der Maxima erheblich. So weisen z. B. die kranken Primärblätter am 18. Juni eine viermal so aktive Phenoloxydase und Peroxydase auf. Am Ende der Vegetationszeit (2. September) fallen die Aktivitäten aller Pflanzenteile stark ab. Die Werte für die gesunden und kranken Teile liegen wieder ziemlich dicht zusammen. Eine bemerkenswerte Ausnahme stellt die Peroxydaseaktivität der kranken Früchte dar, die auf das Zwölffache der gesunden ansteigt. Diese Befunde ergeben sich aus Beobachtungen während zweier Vegetationsperioden (1956 und 1957).

Um die Verhältnisse bei der Keimung zu studieren, untersuchten wir die einen Tag lang auf feuchtem Quarzsand bei 30 °C gequollenen Samen. Diese Samen hatten keine Peroxydase- und Phenoloxydase-Aktivität. Nach zwei bis drei Tagen hatte sich eine etwa 1 cm lange Radicula gebildet. Eine geringe Phenoloxydase- und Peroxydase-Aktivität konnte jetzt nachgewiesen werden. Nach siebentägiger Entwicklungszeit war der Keimling so groß, daß wir die Cotyledonen und das Hypocotyl mit Wurzel getrennt untersuchen konnten. Wir fanden einen starken Aktivitätsanstieg bis auf das Zehnfache der ersten Werte (Tab. 3).

Tabelle 3
Enzymaktivitäten im Keimlingsstadium
(mg Purpurogallin in 250 ml Äther)

1 g Material	Peroxydase		Phenoloxydase	
	gesund	krank	gesund	krank
Keimlinge mit 1 cm langer Radicula	16,8	31,2	4,68	6,56
Hypocotyl und Wurzel	168,0	202,0	48,0	62,0
Cotyledonen	77,6	130,4	10,4	17,2

Da wir während der Vegetationszeit nur die oberirdischen Teile der Pflanze untersuchten, wollten wir wenigstens durch eine Stichprobe die Verhältnisse bei den Wurzeln klären. Wir zogen deshalb Keimlinge in Wasserkulturen (KNOOPsche Nährlösung) an, wobei wir uns im klaren waren, daß diese Ergebnisse sich nicht direkt mit den übrigen vergleichen lassen. Wir stellten fest, daß die Wurzeln eine sehr hohe Peroxydase- und starke Phenoloxydaseaktivität besaßen. Auch hier ist die Peroxydase der kranken Wurzeln etwa doppelt so aktiv wie die der gesunden (Tab. 4).

Die Phenoloxydasen unterscheiden sich wenig.

Tabelle 4
Aktivitäten von Wurzeln
(mg Purpurogallin in 250 ml Äther)

1 g Material	Peroxydase		Phenoloxydase	
	gesund	krank	gesund	krank
Wurzeln (Wasserkulturen)	131,2	256,0	84,0	87,2

Außer durch ihre Aktivität sind die Enzyme durch ihre Substratspezifität gekennzeichnet. Hierbei interessierte uns beonders, ob auch Monophenole, wie Tyrosin, angegriffen werden oder ob sich die Wirkung unserer Peroxydase und Phenoloxydase auf Di- und Triphenole beschränkt. Wir ließen deshalb äquimolare Mengen von Lösungen möglicher Substrate mit gleichen Mengen Enzymlösung mit und ohne Wasserstoffperoxydzusatz reagieren. Wir prüften Tyrosin, p-Oxyzimtsäure (p-Cumarsäure), Hydrochinon, Kaffeesäure, 3,4-Dioxyphenylalanin (Dopa), Gallussäure und Quercetin. Die Oxydation dieser Substanzen ergibt farbige Produkte, deren Farbstärke ein grobes Maß für die enzymatische Oxydation ist. Tyrosin und Quercetin wurden niemals, weder phenoloxydatisch noch peroxydatisch oxydiert. p-Cumarsäure konnte nur durch Peroxydase angegriffen werden. Gegenüber den Di- und Triphenolen waren Peroxydase und Phenoloxydase etwa gleichmäßig stark wirksam.

Die Enzympräparate aus gesundem und krankem Material zeigten keine Spezifitätsunterschiede und wirkten — wie zu erwarten war — nur verschieden stark. Ebenfalls traten während der Untersuchungszeit keine größeren Änderungen in der Spezifität auf. — Die Versuche zeigen, daß Mo-

Tabelle 5

Substratspezifität der Peroxydase und Phenoloxydase aus kranken Blättern

Substrat	Oxydation durch Peroxydase	Oxydation durch Phenoloxydase
Tyrosin	0	0
p-Cumarsäure	++	0
Hydrochinon	+++	++
Kaffeesäure	++++	++
Dioxyphenylalanin	++++	+++
Gallussäure	+++	+++
Quercetin	0	0

0 = ohne Wirkung.
+ — + + + + = Maß für Steigen der Wirksamkeit.

nophenole nicht oder nur langsam oxydiert werden können. Dagegen sind beide Enzyme gegenüber ortho- und para-Diphenolen sowie Triphenolen etwa gleich aktiv.

Schließlich untersuchten wir noch die Enzymaktivitäten des Pilzes, den wir auf flüssigem Nährboden (Czapek-Dox) kultiviert hatten. Die Kulturen waren 6 und 8 Wochen alt. Wir fanden den überwiegenden Teil der Aktivität in der Nährlösung, d. h. dem Kulturfiltrat, und stellten fest, daß hauptsächlich Phenoloxydase produziert wird. Aus dem Kulturfiltrat bzw. dem Myzel einer Kultur bildeten sich z. B. 120,0 bzw. 50,0 mg Purpurogallin. Die Peroxydaseaktivität ist demgegenüber gering, so wurden entsprechend 7,5 und 11 mg Purpurogallin erzeugt. Der Pilz ist also in erster Linie ein Phenoloxydasebildner, wobei, zumindest bei diesen Kulturversuchen, ein größerer Teil des Enzyms in das Nährsubstrat ausgeschieden wurde. Ob dies immer so ist, oder ob hier schon eine Autolyse eingesetzt hat, kann nicht entschieden werden. Auch hier wurde Tyrosin niemals oxydiert.

b) Ascorbinsäureoxydase

Als drittes Atmungsenzym untersuchten wir die Ascorbinsäureoxydase und stellten fest, daß ihre Aktivität im Verlaufe der Vegetationsperiode ähnlichen Schwankungen unterworfen ist wie die der anderen Enzyme (s. Abb. 12). Trotzdem besteht ein großer Unterschied zwischen dem Verhalten der Ascorbinsäureoxydase und dem der beiden anderen Fermente. Während die Aktivität dieser En-

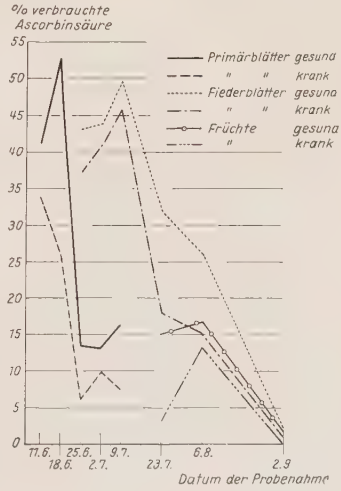


Abb. 12. Aktivität der Ascorbinsäureoxydase in den Organen der gesunden und der kranken Pflanzen

zyme nach der Infektion zunimmt, nahm die der Ascorbinsäureoxydase ab. So fanden wir bei den kranken Primärblättern im Durchschnitt nur einen halb so großen Ascorbinsäureverbrauch wie bei den gesunden. Bei den Fiederblättern und Früchten sind die Differenzen teilweise nicht ganz so hoch, jedoch immer eindeutig. Gegen Ende der Vegetationszeit (2. September) fällt auch die Aktivität dieses Enzyms in allen untersuchten Pflanzenteilen stark ab, es wird kein Substrat mehr umgesetzt.

c) Katalase

Die Untersuchungen über die katalatische Aktivität fielen zeitlich mit denen der anderen Enzyme zusammen. Wir konnten hier jedoch keinen Zusammenhang mit der Infektion feststellen. Die kranken Pflanzen waren weder überwiegend stärker noch schwächer aktiv als die gesunden. Abweichend von dem Verhalten der anderen Enzyme konnte auch keine Beziehung zwischen der vegetativen Entwicklung der Pflanzen und der Enzymaktivität gefunden werden. Die erhaltenen Werte streuten regellos. Wir verglichen weiterhin die beobachteten Enzymaktivitäten mit der Sonnenscheindauer, der mittleren Tagestemperatur und der Niederschlagsmenge in der Woche vor der Probenahme. Wir konnten jedoch keine Beziehungen zwischen diesen Wetterdaten und der Enzymaktivität feststellen. Wir glauben daher annehmen zu können, daß zwischen der Infektion und der Katalaseaktivität kein Zusammenhang besteht.

Diskussion und Versuchsergebnisse

1. a) Kohlenhydrate

Die quantitativen Bestimmungen und die papierchromatischen Befunde lassen übereinstimmend erkennen, daß bezüglich ihres Zuckergehaltes die einzelnen Organe der Pflanze auf die Infektion verschieden reagieren. Während die kranken Blätter (Tab. 1) stets mehr Zucker als die gesunden enthalten, ist es bei Stengeln und Früchten umgekehrt. Diese unterschiedliche Verteilung der Zucker in den Organen des Wirtes erklärt sich für Stengel und Früchte wahrscheinlich durch den Verbrauch des Parasiten, dessen Schadstellen sich vorwiegend dort befinden. Gleiche Ergebnisse fanden MURPHY (1936) bei mit Kronenrost *(Puccinia coronata avenae)* infizierten Haferpflanzen, WOLF und WOLF (1955) bei *fusarium*-welkem Tabak und MIELLER (1949) bei schwarzfaulen Äpfeln.

Der erhöhte Zuckerspiegel der kranken Blätter kann verschiedene Ursachen haben. Einmal kann die Assimilation, parasitär bedingt, erhöht sein. Zum anderen könnte der Verbrauch in den befallenen Blättern kleiner sein. Schließlich wäre noch an einen gestörten Zuckertransport zu denken. Da Analysen immer nur den Status zur Zeit der Probenahme anzeigen, ohne etwas über die Geschwindigkeit des Umsatzes auszusagen, können wir die Entscheidung, welcher Fall hier vorliegt, nicht eindeutig treffen.

Bei erhöhter Assimilation der kranken Pflanze müßten wir in deren Früchten und Stengel einen noch größeren Verbrauch durch den Parasiten annehmen. Vielleicht ist in und um die Infektionsherde herum auch die Atmung größer. Hierfür würde das zusätzliche Auftreten von Citronensäure in kranken Früchten sprechen. Ein Teil der Zucker der befallenen Früchte wird sicher auch zu cyclischen Verbindungen vom Typ der Kaffeesäure und p-Cumarsäure und deren Derivaten verarbeitet, die sich in den gesunden Früchten nicht finden. Nur ein kleinerer Teil der Zucker der kranken Früchte wird wahrscheinlich zusätzlich zu Aminosäuren umgesetzt, denn auch diese treten dort vermindert auf. Da die Verschiebungen im Zuckergehalt immer gleichmäßig alle Zucker betreffen, sind Eingriffe in den Zuckertransport wenig wahrscheinlich. Wir müßten sonst Differenzen im Saccharosegehalt, der Haupttransportform der Zucker, gefunden haben. Ein weiterer Befund, der für erhöhte Synthese der kranken Pflanze spricht, die sich in den Früchten und Blättern nur verschieden äußert, haben wir in dem vermehrten Auftreten des Hyperosids in den kranken Blättern (Herzmann 1958).

b) Stickstoff

Die Verteilung der Stickstoffverbindungen gleicht der der Zucker. Während die stark befallenen Früchte einen geringeren Gehalt an Aminosäuren aufweisen, liegt er bei wenig befallenen Blättern höher. Hier sind auch der Gesamtstickstoffgehalt und entsprechend der der unlöslichen Stickstoffverbindungen (Eiweiße) erhöht. Unsere Ergebnisse gleichen hier denen von Ross (1957) an *Verticillium*-infizierter Pfefferminze und den Befunden von Murphy (1936) an mit Kronenrost infiziertem Hafer. Außerdem stellten wir wie Ross in kranken Blättern stets mehr Pipecolinsäure fest. Wichtig erscheint uns, daß Rohringer (1957) bei kranken Weizenkeimpflanzen *(Puccinia graminis tritici)* mehr Glutamin feststellte. Auch wir fanden stärkere Veränderungen im Gehalt eines Amides, des Asparagins. Dieses kommt in kranken Pflanzen (auch bei den Früchten) immer vermehrt vor. Das Asparagin dient ebenso wie das Glutamin der Ammoniakentgiftung bzw. -speicherung. Dies kann bedeuten, daß es in der kranken Frucht an C-Skeletten mangelt und deshalb die Aminosäuresynthese gestört ist. Tatsächlich haben wir in der kranken Frucht auch weniger Zucker gefunden. Außerdem könnten auch Aminosäuren zusätzlich veratmet werden. Das hierbei zurückbleibende Ammoniak würde von der Asparaginsäure gebunden werden. Auch dies böte eine Erklärung für den hohen Asparagingehalt der Früchte. In kranken Blättern, die weitaus weniger stark befallen sind, fanden wir in allen Fraktionen mehr Stickstoff, dort ist auch der Zuckergehalt höher. Demgegenüber berichtete Grümmer (1955) über geringeren Eiweiß- (d. h. unlöslichen) stickstoffgehalt in den Blättern von Kartoffeln, die mit *Phytophthora infestans* infiziert waren.

Allerdings können wir hier unterstellen, daß in bezug auf die Stärke des Befalles durch den Parasiten, die Kartoffelblätter mehr den Früchten der Bohne entsprechen, so daß man die Abweichung hiermit erklären könnte.

Die starke Zunahme von Asparagin- und Glutaminsäure in den infizierten Blättern könnte, da die Verhältnisse so wie beim Zucker liegen, durch erhöhte Synthese erklärt werden. Die beiden Aminosäuren stellen bekanntlich die nächsten Verbindungsglieder zu den Säuren des Krebszyklus dar.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß der Zucker- und der Stickstoff-Stoffwechsel, auch der kranken Pflanze, eng zusammenhängen.

c) Carbonsäuren

Wir fanden drei Säuren des Citronensäurezyklus, nämlich Citronensäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure. Die Unterschiede in den Blättern waren erwartungsgemäß gering, es häuft sich keine Säure in den kranken Blättern zusätzlich an. Dagegen tritt in den kranken Früchten zusätzlich zur Äpfelsäure noch Citronensäure auf. Säureüberschüsse bei kranken Pflanzen hatten auch schon MIELLER (1949) bei schwarzfaulen Äpfeln und STAPLES (1956) bei infiziertem Weizen *(Puccinia rubigo vera tritici)* festgestellt. Überhaupt ist nach GÄUMANN (1951) die Acidität des Zellsaftes der kranken Pflanzen häufig erhöht. Das verhältnismäßig starke Vorkommen der Citronensäure läßt einmal auf vermehrte Atmung schließen, was sich gut in das Bild, das wir beim Zucker- und Stickstoff-Stoffwechsel erhielten, einfügt. Die Citronensäure, die eine wichtige Position im Krebszyklus einnimmt, kann wahrscheinlich nicht so schnell weiter verarbeitet werden und häuft sich an. Diese Überschüsse an Citronensäure sind im pflanzlichen Stoffwechsel nicht sehr selten (PAECH 1950); die Säure stellt eine Art kurzfristigen Speicherstoff dar. Weiterhin kann auch der Parasit an der Bildung der Citronensäure direkt beteiligt sein; verschiedene Pilze produzieren und scheiden Citronensäure aus. Das Vorkommen von Shikimisäure in den Blättern weist auf Aromatisierungsreaktionen hin (BROWN und NEISH 1955, FREUDENBERG 1956). In dem jetzt schon fast als sicher geltenden Prozeß steht sie mit einer Doppelbindung etwa in der Mitte der Reihe; ein Vorprodukt wurde in Form der Chinasäure (als Ester) gefunden. Vollaromatische Folgeprodukte der Shikimisäure stellen die Zimtsäureabkömmlinge p-Cumarsäure und Kaffeesäure dar.

d) Fermentuntersuchungen

Die Ergebnisse hatten gezeigt, daß die Aktivitäten der Phenoloxydase, Peroxydase und Ascorbinsäureoxydase im Verlaufe der Vegetationsperiode sowohl bei gesunden als auch bei kranken Pflanzen großen Schwankungen unterworfen sind. Die Phenoloxydase- und Peroxydaseaktivität stiegen zu Beginn der Vegetationsperiode stets an (Maximum 18. Juni), durchliefen Ende Juni bis Anfang Juli ein Minimum und wiesen ein zweites Maximum Ende Juli auf. Danach fielen die Aktivitäten beider Enzyme stark ab. Das erste Maximum der Enzymaktivität fällt in eine Zeit ausgeprägter vegetativer Entwicklung der Pflanzen. Die Primärblätter sind voll ausgebildet, die ersten Fiederblätter im Wachstum, weitere beginnen mit der Entwicklung. Der

starke Abfall zur Zeit der Anlage der generativen Organe läßt große Veränderungen auch bei der Aktivität der Oxydationsenzyme erkennen. Nach Abschluß der Blüte, während der Entwicklung der Früchte und Bildung weiterer Folgeblätter, tritt das zweite Maximum der Enzymaktivität auf. Gegen Ende der Vegetationszeit, wenn die Pflanzen voll ausgewachsen sind, gehen die Aktivitäten aller Enzyme stark zurück. Dieser Verlauf der Aktivität der Enzyme ist sowohl bei gesunden als auch bei kranken Pflanzen vorhanden.

Die Werte der kranken Pflanzen liegen jedoch stets höher als die der gesunden. Über stärkere Schwankungen der Aktivität der Peroxydase bei *Mentha piperita* während der Vegetationsperiode hatte auch schon Ahlgrimm (1956) berichtet. Auch er fand ein Absinken der Aktivität bis Mitte Juli, dem ein erneuter Anstieg folgte.

Umgekehrt verhält es sich mit der Ascorbinsäureoxydase. Die kranken Pflanzen sind hier weniger aktiv als die gesunden. Die Schwankungen während der Vegetationszeit entsprechen etwa denen der Phenoloxydase und Peroxydase. Die erhöhte Aktivität der Phenoloxydase und der Peroxydase in den kranken Pflanzen soll, nach Farkas und Kiraly (1958), eine Abwehrreaktion sein und eine schützende Funktion ausüben. Weitere Untersuchungen der genannten Verfasser zeigten ähnliche Veränderungen in der Aktivität der Oxydasen bei gesundem bzw. rostbefallenem Weizen. Hier war jedoch die Aktivität der Ascorbinsäureoxydase nach der Infektion stark angestiegen und soll die Rolle einer Endoxydase übernommen haben. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Hassebrauk und Kaul (1957) bei mit Braunrost infiziertem Weizen. Sanwal (1956) stellte u. a. bei mit *Fusarium lycopersici* infizierten Tomaten eine Erhöhung der Phenoloxydaseaktivität gegenüber den Kontrollen fest. Rubin und Arzichowskaja (1953) halten den Anstieg der Peroxydaseaktivität ebenfalls für eine Schutzreaktion des Wirtsgewebes. Wie wir zeigen konnten, produziert der in vitro kultivierte Pilz wenig Peroxydase, so daß der Anstieg der Peroxydaseaktivität, gleiche Verhältnisse vorausgesetzt, auch bei brennfleckenkranken Bohnen eine Reaktion des Wirtes sein könnte. Bei der Phenoloxydase könnte zumindest ein Teil der Aktivität auf den Pilz selbst zurückgeführt werden. Uritani (1953 bis 1955) fand bei mit *Ceratostomella fimbriata* infizierten Süßkartoffeln ebenfalls weniger Ascorbinsäureoxydase. Die pathologische Zunahme der Atmung wird hier durch Phenoloxydase und ein Cytochromoxydase-System veranlaßt. Durch verstärkte Atmung wurden die Ascorbinsäure- und die Phenolsynthese gesteigert. Die Ergebnisse deuteten weiter an, daß Phenol-Phenoloxydase-Ascorbinsäure ein Atmungsenzymsystem in kranken Süßkartoffeln bilden. Die Ergebnisse von Uritani decken sich in mancher Hinsicht mit unseren eigenen, jedoch wäre es verfrüht, ein spezielles Oxydasesystem zu postulieren. Auch Fuchs (1956) nimmt bei mit *Phytophthora* infizierten Kartoffeln an, daß das Verhältnis der verschiedenen Endoxydasen durch parasitäre Eingriffe zugunsten des Phenoloxydasesystems verschoben

ist. Substrate für dieses Ferment werden verstärkt produziert, was sich mit den Ergebnissen von URITANI und unseren eigenen deckt.

Die Untersuchungen über die Substratspezifität der Oxydasen zeigten, daß Tyrosin nicht oxydiert werden konnte. Bei der Phenoloxydase kann es sich also nicht um Tyrosinase handeln. Dagegen wurden o- und p-Diphenole gleichermaßen oxydiert, so daß das Ferment eine Oxydase vom Typ der „Laccase" sein dürfte.

Zusammenfassung

1. Die Blätter kranker Pflanzen wiesen einen höheren Zucker- und Stickstoffgehalt auf, besonders stark nahm die Fraktion der freien Aminosäuren zu. In den infizierten Früchten und Stengeln fanden sich dagegen weniger Zucker- und Stickstoffverbindungen. Gesunde und kranke Blätter unterschieden sich hinsichtlich der Carbonsäuren nicht, kranke Früchte enthielten dagegen außer Apfelsäure zusätzlich Citronensäure.

2. Die Aktivitäten der Phenoloxydase und der Peroxydase unterliegen während der Vegetationszeit großen, in allen Organen gleichsinnig verlaufenden Schwankungen. Zwischen zwei Maxima zu Beginn und in der Mitte der vegetativen Entwicklung der Pflanze wurde ein Aktivitätsminimum zur Zeit der Blüte festgestellt. Die kranken Pflanzen verfügen in allen Entwicklungsstadien über aktivere Phenoloxydase und Peroxydase. Die Aktivität der Ascorbinsäureoxydase unterliegt ähnlichen Schwankungen, jedoch sind hier die kranken Pflanzen weniger aktiv als die gesunden. Bei der Katalase konnte kein Zusammenhang zwischen Infektion und Aktivität festgestellt werden.

Summary

1. The leaves of diseased plants showed higher sugar and nitrogen contents, the rise being specially marked in the fraction of free amino acids. In infected fruits and stems however the amount of sugar and nitrogen compounds was less. No difference between healthy and diseased leaves was observed in the amounts of organic acids but diseased fruits contained citric acid in addition to malic acid.

2. The phenoloxidase and peroxidase activities underwent marked fluctuations, which were in the same direction in all organs, during the growth period. There were two maxima, at the beginning and in the middle of vegetative development respectively, with a minimum in between at the time of flowering. Diseased plants possess higher phenoloxidase and peroxidase activity in all stages of development. The ascorbic-acid oxidase activity undergoes similar variations but in this case the diseased plants have a lower activity than the healthy plants. No correlation could be detected between catalase activity and infection.

Literaturverzeichnis

Ahlgrimm, E. D., 1956: Beiträge zur Frage der Biogenese sekundärer Stoffwechselprodukte. Planta **47**, 255—298.

Brown, S. A., and A. C. Neish, 1955: Shicimic acid as a precursor in lignin biosynthesis. Nature **175**, 688—689.

Euler, H. v., K. Myrbäck und S. Myrbäck, 1930: Zur Bestimmung der Katalase in Pflanzenmaterial. Hoppe-Seyler **186**, 212.

Farkas, G. L., and Z. Kiraly, 1955: Studies on the respiration of wheat infected with stem rust and powdery mildew. Physiol. Plant. **8**, 877—887.

Freudenberg, K., 1956: Lignin im Rahmen der polymeren Naturstoffe. Angew. Chem. **68**, 84—92.

Fuchs, W. H., 1956: Ein Beitrag zur pathologischen Physiologie. Angew. Bot. **30**, 141—146.

Fujita, A., und D. Iwatake, 1931: Bestimmung des echten Blutzuckers ohne Hefe. Biochem. Z. **242**, 43—60.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel.

Grümmer, G., 1955: Beziehungen zwischen dem Eiweißstoffwechsel von Kulturpflanzen und ihrer Anfälligkeit gegen parasitische Pilze. Phytopath. Z. **24**, 1—42.

Hassebrauk, K., und R. Kaul, 1957: Vergleichende chemische Untersuchungen des Atmungsstoffwechsels von Weizenkeimlingen unterschiedlicher Braunrostanfälligkeit. Phytopath. Z. **29**, 305—326.

Heitefuss, R., 1957: Erfahrungen zur quantitativen papierchromatographischen Bestimmung von organischen Säuren. Angew. Bot. **31**, 61—62.

Herzmann, H., 1958: Biochemische Untersuchungen über den Stoffwechsel gesunder und brennfleckenkranker Bohnen, II., Phytopath. Z. im Druck.

Hoffmann-Ostenhof, O., 1954: Enzymologie. Springer, Wien.

Humphries, E. C., 1956: Total nitrogen. In K. Paech und M. V. Tracey, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse **I**, 479—482. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Huszak, St., 1937: Über die Funktion des Peroxydase-Systems in Pflanzen. Z. physiol. Chem. **247**, 239—247.

Klein, G., und W. Ziese, 1932: Beiträge zum Chemismus pflanzlicher Tumoren. Biochem. Z. **254**, 264—285.

Langenbeck, W., R. Hutschenreuter und W. Rottig, 1932: Über organische Katalysatoren. VII. Mitt. Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1750.

Mason, H. S., 1949: The chemistry of melanine. J. biol. chem. **180**, 235—247 und **181**, 803—812.

Matthias, W., 1954: Serienuntersuchungen mit Hilfe einer neuen Form der Streifenpapierchromatographie. Naturwissenschaften **41**, 17.

Mieller, H., 1949: Über den Zuckergehalt von schwarzfaulen Äpfeln und Birnen. Z. Pflanzenkrankh. **56**, 258—262.

Murphy, H. C., 1936: Effect of crown rust on the composition of the oats. Phytopathology **26**, 220—234.

Paech, K., 1950: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

* Partridge, S. M., 1949: Nature **164**, 443.

Rohringer, R., 1957: Untersuchungen zur Biochemie von Weizenkeimpflanzen nach Infektion mit *Puccinia graminis tritici*. Phytopath. Z. **29**, 45—64.

Ross, J. P., 1957: Free amino acids and amides in healthy and verticilliuminfected peppermint and chrysanthemum plants. Phytopahtology **47**, 29.

Rubin, B. A., und E. W. Arzichowskaja, 1953: Biochemische Charakteristik der Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegenüber Mikroorganismen. Akademie-Verlag, Berlin.

Sanwal, B. D., 1956: Polyphenoloxidase and ascorbic acid oxidase activity in tomato plants infected with *Fusarium lycopersici* Sacc. Proc. Indian. acad. sci., sect. B **44**, 257—270.

Schaffnit, E., und K. Böning, 1925: Die Brennfleckenkrankheit der Bohnen, eine monographische Studie auf biologischer Grundlage. Zbl. Bakt. **63**, 176—254, 360—438 und 482—508.

Staples, R. C., 1956: The organic acids of the wheat leaf infected with *Puccinia rubigo vera tritici*. Phytopathology **46**, 27.

* Tillmans, J., 1927: Z. Unters. Lebensmittel **54**, 33.

Uritani, I., und Mitarbeiter, 1953—1955: Phytopathologische Chemie der schwarzfaulen Süßkartoffeln. J. agric. soc. Japan **27**, 688—692, **28**, 205—212 und **29**, 151—156, 156—161 und 344—349.

Willstätter, R., und A. Stoll, 1918: Über die Peroxydase. Liebigs Ann. Chem. **416**, 21—64.

Wolf, F. A., and F. T. Wolf, 1955: The chemical composition of leaves of diseased tobacco: Ring spot, bacterial wilt and Fusarium wilt. Phytopathology **45**, 505—508.

Wolffgang, H., 1957: Mineralsäuren in Papierchromatogrammen pflanzlicher Extrakte. Naturwissenschaften **44**, 538.

— —, und K. Mothes, 1953: Papierchromatographische Untersuchungen an pflanzlichen Blutungssäften. Naturwissenschaften **40**, 606.

* Die Arbeiten waren nur im Referat zugänglich.

Aus der Forstlichen Versuchsanstalt „De Dorschkamp", Wageningen, Niederlande

Bemerkungen über einige *Cenangium ferruginosum* ähnliche Pilze

Von

J. Gremmen

Mit einer Abbildung

Seit Schwarz (1895) *Cenangium ferruginosum* Fr. ex Fr. (= *Cenangium abietis* [Pers.] Duby) als Erreger des Triebsterbens bei *Pinus*-Arten vermutet hat, ist der Pilz viel in der phytopathologischen Literatur erwähnt worden.

Van Vloten und Gremmen (1953) haben zwar mit Hilfe von Infektionsversuchen nachgewiesen, daß es sich dabei nur um einen harmlosen Saprophyten handelt, doch betrachten ihn immer noch recht viele Forstpathologen als den wirklichen Erreger des Triebsterbens. Diese Meinung wird auch in einigen neueren Arbeiten vertreten.

Ferreirinha (1950) fand den Pilz auf *Pinus pinaster* und *Pinus pinea* in Portugal, und Molnar (1954) erwähnt ein Triebsterben, das durch *Cenangium ferruginosum* auf *Pinus ponderosa* in Kanada verursacht sein soll. Schwerdtfeger (1957) sagt auch noch jetzt in seinem Lehrbuch der Forstpathologie über *Cenangium abietis:* „Weitverbreiteter Saprophyt auf abgestorbenen Zweigen, der unter Umständen zum Parasiten werden und ein Kieferntriebsterben hervorrufen kann. Befällt gemeine Kiefer, Schwarz- und Bergkiefer in allen Altersklassen". Zweifellos handelt es sich bei dieser Kiefernkrankheit nicht um *Cenangium ferruginosum,* sondern wahrscheinlich um einen Befall durch *Scleroderris Lagerbergii* Gremmen (= *Crumenula abietina* Lgbg.).

Cenangium ferruginosum soll auch — nach einigen Arbeiten — auf Vertreter anderer Coniferengattungen schädlich wirken. Derartige Angaben haben sich bis heute aber stets als unrichtig erwiesen. So konnte Kujala (1950) die Meldungen des finnischen Autors Liro, wonach Fichten befallen sein sollten, auf eine falsche Bestimmung des Erregerpilzes zurückführen; er bestimmte den Pilz als *Encoelia inculcata* Karst. Badoux (1922) fand den Pilz angeblich auch auf *Abies,* doch konnte Ettlinger (1945) am betreffenden Material nachweisen, daß es sich um *Brunchorstia gibbosa* Wr. handelte (Abb. 1g).

In weiteren derartigen Fällen war es mir selber möglich zur Klärung beizutragen. So erwähnte ROBAK (1956) den Pilz auf Material von *Picea abies*. In Wirklichkeit handelte es sich aber um *Velutaria rufo-olivacea* (Alb. & Schw. ex Fr.) Fuck.

In anderen Fällen fand ich Verwechslung mit *Pseudophacidium ledi* (Alb. & Schw.) Karst.

Cenangium ferruginosum vermag offenbar nur *Pinus*-Arten zu besiedeln; seine Verbreitung scheint sich mit derjenigen der Gattung *Pinus* zu decken und erstreckt sich über Europa und Nordamerika.

Die nachfolgend erwähnten Pilze scheinen Veranlassung zur Verwechslung mit *Cenangium ferruginosum* (Abb. 1c) zu geben.

1. *Encoelia inculcata* Karst. (Myc. Fenn. I : 220. 1871).

Ich bin in der Lage gewesen das KARSTENsche Material zu untersuchen. Es stammt von Mustiala (19. 4. 1869), ad corticem abietis (excelsae).

Leider war das Material spärlich und außerdem teilweise unreif. Die Apothecien sind schwarz und öffnen sich mit einem sternförmigen Rand wie bei den *Godronia*-Arten. Einige Asci waren 60 × 6 μ groß, und die Ascosporen waren 7,5 (8,5) bis 9,5 (11,5) × 3 μ farblos, zweizellig, oft etwas gebogen (Abb. 1 a).

2. *Pseudophacidium ledi* (Alb. & Schw.) Karst. (Acta Soc. Fenn. 2, 157, 1885).

Eine ausführliche Beschreibung ist von v. ARX und MÜLLER (1954) verfaßt worden; sie erwähnen den Pilz auch von vielen Wirtspflanzen, z. B. *Betula, Calluna, Ledum, Rhododendron* und *Vaccinium*. Bei dem mir vorliegenden, in der Schweiz (Bergün, Val Tours) von Dr. H. BUTIN auf *Picea excelsa* gesammelten Material sind die Asci 115 bis 134 × 11,5 bis 15,5 μ, die Ascosporen 13,5 bis 15,5 × 5,5 bis 6,5 μ groß (Fig. 1 f.). Der Pilz wurde auch in Kultur genommen. Die Ascosporen keimten gut und bildeten zunächst ein weißes, allmählich sich dunkel verfärbendes Myzel, in dem nach einigen Monaten Mikrokonidien in winzigen Tröpfchen gebildet wurden.

3. *Scleroderris Lagerbergii* Gremmen (Sydowia 9, 232. 1955).

Die Apothecien dieses Pilzes werden oft zusammen mit denen von *Cenangium ferruginosum* angetroffen und können ihnen sehr ähnlich sein. Die Ascosporen (Abb. 1 e) und die Pyknosporen *(Brunchorstia pinea* [Karst.] V. Höhn.) sind sehr verschieden (Abb. 1 d).

4. *Therrya Fuckelii* (Rehm) Kujala (Comm. Inst. Forest. Fenn. 38, 4. 1950).

Die 1 bis 2 mm großen Apothecien des Pilzes entwickeln sich subepidermal. Sie sind anfangs geschlossen, später durchbrechen sie die Epidermis, wobei diese die nunmehr entblößte Fruchtschicht sternförmig umgibt. Das Hymenium ist hell, 150 bis 160 μ tief und von einem 20 bis 30 μ dicken, dunkelbraunen Epithecium bedeckt. Das Hypothecium ist zweischichtig; unmittelbar unter dem Hymenium ist es hyalin, ungefähr 20 μ dick und

darunter hellgelb, 40 bis 80 μ dick und mit 10 bis 20 μ großen Kristallen. Das dunkelbraune Excipulum ist am Fuß 12 bis 15 μ und an den Seiten 20 bis 60 μ dick. Die Asci sind keulig, 150 bis 165 $\times$ 11,5 bis 15,5 μ groß, achtsporig. Die anfänglich einzelligen, sichelförmigen, hyalinen, mit zahlreichen kleinen Plasmatröpfchen gefüllten, 130 bis 140 $\times$ 5 μ großen Ascosporen teilen sich später, bis sie acht- bis zwölfzellig sind. An den Enden laufen sie in anhängselartige Spitzen aus (Abb. b). Die Paraphysen sind farblos, enden aber mit dunkelbraun gefärbten, kugeligen Anschwellungen.

In Reinkultur wächst der Pilz ziemlich langsam und bildet ein weißes Myzelkissen. Ein imperfektes Stadium wurde dabei nicht beobachtet.

Nach Kujala (1950) können in der Gattung *Therrya* Penz. & Sacc. zwei Arten unterschieden werden, nämlich: *Therrya Fuckelii* (Rehm) Kujala (= *Coccophacidium pini* [Alb. & Schw.] Rehm var. *Fuckelii* Rehm) und *Therrya pini* (Alb. & Schw.) Kujala (= *Coccophacidium pini* [Alb. & Schw.] Rehm, p. parte).

Sporen von a) *Encoelia inculcata*, b) *Therrya Fuckelii*, c) *Cenangium ferruginosum*, d) *Scleroderris Lagerbergii*, Pyknosporen (*Brunchorstia pinea*), e) *Scleroderris Lagerbergii*, Ascosporen, f) *Pseudophacidium ledi*, g) *Brunchorstia gibbosa*, h) *Velutaria rufo-olivacea*

Therrya Fuckelii bevorzugt die älteren, gelbbraunen, abblätternden Rindenpartien der Kiefer. Sie besitzt 85 bis 153 μ lange, achtzellige Ascosporen, während *Therrya pini* auf abgestorbenen, dünnen Trieben wächst und sich durch 50 bis 90 μ lange, vorwiegend vierzellige Ascosporen auszeichnet.

Karsten (1885) vermutete in *Fusicoccum pinastri* (Fr.) Karst. die Nebenfruchtform von *Coccophacidium (Therrya) pini*, stellte aber schon ein Jahr vorher diesen Konidienpilz zu *Phacidium lacerum* Fr. Dies wurde inzwischen (Gremmen, 1957) durch Kulturversuche auch bewiesen.

5. *Velutaria rufo-olivacea* (Alb. & Schw. ex Fr.) Fuck. (Symb. myc. 300. 1869).

Die Gattung *Velutaria* Fuck. ist von Petrak (1949) ausführlich beschrieben worden. Danach hat *Velutaria rufo-olivacea*, die Typusart, eine Cenangiee, dunkel gefärbte Sporen, die leicht von den *Cenangium*-Sporen zu unterscheiden sind. Im Anfang sind sie einzellig und farblos, später zweizellig und braun (Abb. h). Diese Art ist sehr polyphag und kommt auf verschiedenen Pflanzen, wie *Rosa*, *Rubus*, *Crataegus*, *Acer*, *Salix*, *Cercis* und *Carpinus*, vor.

Das mir vorliegende von Robak (1956) in Syfteland (Os) gesammelte Material ist leider noch unreif und besitzt deswegen nur ungefärbte Sporen, welche mit denen von *Cenangium ferruginosum* verwechselt werden könnten. Ganz verschieden aber ist der Bau der Gehäuse. Bei *Velutaria rufo-olivacea* besteht es aus ziemlich runden, eckigen Zellen, bei *Cenangium ferruginosum* aus einem hyalinen Gewebe mit deutlichen „Luftkammern".

An dieser Stelle möchte ich den Herren Dr. H. Butin (Institut für forstliche Mykologie, Hann. Münden); Prof. Dr. H. Robak (Vestlandets Forstlige Forsøksstasjon, Bergen) und Dr. H. Roivanen (Botanisches Museum, Helsinki) danken für das Material, das ich untersuchen konnte. Herrn Dr. E. Müller, Institut für Spezielle Botanik, Zürich, danke ich herzlich für seine wertvolle Hilfe bei der Übersetzung.

Summary

In this paper some inoperculate Discomycetes are reported, which show great similarity with *Cenangium ferruginosum* and which may be confused with it. This fungus has often been considered a serious parasite of conifers, and even recently this has been published again in Portugal, Canada and Germany. Certainly this error must be ascribed to the fact that *Cenangium ferruginosum* resembles other Discomycetes. It is a genuine saprophyte and only occurs on the genus Pinus.

Literaturverzeichnis

Arx, J. A. v., und E. Müller, 1954: Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. Beitr. Kryptogamenflora Schweiz. **11** (1).

Badoux, H., 1922: Le *Cenangium abietis* Duby, un nouveau champignon parasitaire de l'épicéa. J. forest. suisse **73**, 101—104.

Ettlinger, L., 1945: Über die Gattung *Crumenula sensu* Rehm mit besonderer Berücksichtigung des *Crumenula*-Triebsterbens der *Pinus*-Arten. Promotionsarbeit, E. T. H. Zürich.

Ferreirinha, M. P., 1950: Algumas notas acêrca de *Cenangium abietis* (Pers.) Rehm. Publ. Dir. Geral Serv. Flor. e Aq. **17** (1, 2), 23—32.

Gremmen, J., 1957: Microfungi decomposing organic remains of pines. Fungus **27**, 34—42.

Karsten, P. A., 1885: Rev. Mon. Syn. Ascom. Fenn. Acta Soc. F. Fl. Fenn. T. **2**, nr. 6.

Kujala, V., 1950: Über die Kleinpilze der Koniferen in Finnland. Comm. Inst. Forest. Fenn. **38**, 4.

Molnar, A. C., 1954: A disease causing flagging on Ponderosa pine. Bi-monthly Progr. Rep. **10** (3), 4.

Petrak, F., 1949: Über die Gattungen *Velutaria* Fuck., *Phaeangium* Sacc., *Phaeangella* Sacc. und *Perizomatium* Syd. Sydowia, Ann. Myc. **8** (1—6), 196—200.

Robak, H., 1956: Some fungi occurring on died-back tops and branches of *Picea abies* and *Abies* spp. in Western Norway. Friesia **5** (3—5), 366—389.

Schwarz, F., 1895: Die Erkrankung der Kiefern durch *Cenangium abietis*. Jena.

Schwerdtfeger, F., 1957: Die Waldkrankheiten. 2. Auflage.

Van Vloten, H., and J. Gremmen, 1953: Studies in the Discomycete genera *Crumenula* De Not. and *Cenangium* Fr. Acta Bot. Neerl. **2** (2), 226—241.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für gärtnerische Virusforschung
Berlin-Dahlem

Untersuchungen über ein blattlausübertragbares, von Tabakfangpflanzen isoliertes Virus

Von

R. Schwarz

Mit 5 Abbildungen

Anläßlich einer größeren epidemiologischen Arbeit[1]) wurde im Raume Berlin 1956 von zu experimentellen Zwecken im Freiland ausgesetzten Pflanzen von *Nicotiana tabacum* var. Samsun dreimal ein Virus isoliert, das auf diesen Pflanzen so eigenartige Symptome hervorbrachte, daß eine nähere Diagnose von Interesse schien. Die Symptome des Isolates F 9 auf den verschiedenen Wirtspflanzen waren folgende:

Nicotiana tabacum L. var. Samsun (26/3)[2])

Nach vier bis sechs Tagen zeigten sich vereinzelt chlorotische Primärläsionen: Um einen chlorotischen Mittelpunkt konzentrisch angeordnet, zeigten sich drei bis fünf zarte Ringe, deren äußerster einen Durchmesser von vier Millimetern hatte. Auf den Folgeblättern traten als systemische Symptome hellgrüne Liniensysteme (Abb. 1) hervor — sie waren meist entlang einer Ader angeordnet. In den Interkostalfeldern kam es auch zur Ausbildung von Schleifen und Ringen. Manchmal waren die äußersten Linien einer Linienschar wie mit einer feinen Nadel gestochen. Am Zuwachs zeigten sich mitunter Blattverbeulungen. Wurde die Pflanze älter, so verschwanden die Symptome selbst an Blättern, die deutliche Symptome gezeigt hatten, fast vollkommen. Die Symptome waren am besten im Herbst und im Frühjahr ausgeprägt. Im Sommer und im Winter waren sie meist äußerst schwach. *Nicotiana tabacum* var. Samsun eignete sich aus diesem Grunde weder zur Überwinterung der Virose noch zu Hitzeinaktivierungs- und Alterungsversuchen.

[1]) Über diese Untersuchungen wird zu einem späteren Zeitpunkt berichtet werden.

[2]) (Infektion positiv/Infektion negativ)

Nicotiana glutinosa L. (11/1)

Etwa fünf Tage nach der Inokulation zeigten sich auf den Abreibeblättern verwaschene chlorotische Flecke, die teilweise undeutliche Ringform haben konnten, auf den Folgeblättern war im Herbst ab und zu ein chlorotischer Ringfleck zu sehen, der bald wieder verschwand.

Abb. 1. Systemische Symptome des Virusisolates auf Blättern von *Nicotiana tabacum* var. Samsun. Foto: BBA (SCHÄLOW)

Abb. 2. Systemische Symptome des Virusisolates auf Blättern von Kartoffel (Sorte Ackersegen). Sektoriale Aufhellungen des dritten und vierten Fiederblattes links. Foto: BBA (SCHÄLOW)

Solanum demissum L. (10/0)

Nach einhalb bis eineinhalb Wochen erschienen auf den oberen Blättern blasige Auftreibungen als Symptome einer systemischen Erkrankung. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief positiv.

Solanum tuberosum L. (4/10)

Nach kurzfristiger Übertragung der Virose mit *Myzodes persicae* (fünf Blattläuse je Pflanze) von *Chenopodium quinoa* auf junge, aus Samen angezogene Kartoffelpflanzen (Ackersegen), erkrankten einige der Pflanzen systemisch (Rücktest auf *Chenopodium quinoa* positiv). Symptome waren nicht immer eindeutig zu erkennen. In einigen Fällen zeigten sich jedoch an den Blättern deutlich aufgehellte Sektoren (Abb. 2). Diese Aufhellungen nahmen jedoch keine leuchtende Gelbfärbung an (wie sie etwa für das Luzernemosaik von verschiedenen Autoren beschrieben wurde), sondern gingen nur bis zu hellgrüner Aufhellung. Die Knollen der erkrankten Pflanzen wurden

kurz nach der Ernte mit Äthylenchlorhydrin und Warm-Kalt-Behandlung nach der von Snell (1936) entwickelten Methode zum Keimen gebracht. Nachdem die ersten Blätter erschienen waren, wurden diese auf ihren Virusgehalt getestet (Abreibung auf *Chenopodium quinoa*). Die Kartoffelknollen, die von drei verschiedenen erkrankten Pflanzen geerntet worden waren (insgesamt 34 Knollen), erwiesen sich sämtlich als virusfrei. Bei dem untersuchten Material war das Virus also nicht in die Knollen vorgedrungen.

Datura innoxia Mill. (7/3)

Diese Pflanze reagierte auf die Infektion systemisch mit Adernaufhellungen und Blattverkrümmungen. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief positiv.

Datura stramonium L. (8/0)

Sowohl auf den Abreibeblättern als auch auf den Folgeblättern waren Nekrosen zu beobachten, die teilweise Ringform hatten, teilweise einen gezackten Verlauf aufwiesen. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief positiv.

Chenopodium amaranticolor Coste & Reyn. (10/0)

Nach drei bis vier Tagen zeigten sich auf den Abreibeblättern zahlreiche kleine chlorotische Primärläsionen, die nach einiger Zeit auch auf nicht abgeriebenen Blättern erschienen. Die Pflanze wurde nach etwa drei bis vier Tagen stark systemisch krank, die jungen Blättchen krümmten sich nach unten, und die Pflanze ging nach einigen Wochen zugrunde.

Chenopodium ambrosioides L. (10/0)

Nach etwa drei Tagen zeigten sich an den Abreibeblättern zahlreiche kleine rote Primärläsionen mit nekrotischem Kern, Durchmesser 1,5 mm. Auf den Folgeblättern waren keine Symptome festzustellen.

Chenopodium anthelminthicum L. (10/0)

Nach drei Tagen wiesen die Abreibeblätter zahlreiche Lokalläsionen mit einem nekrotischen Kern und ockerfarbenem Hof von 1,5 mm Durchmesser auf. Nach etwa einer Woche wurde die Pflanze stark systemisch krank und starb nach kurzer Zeit ab.

Chenopodium polyspermum L. (10/2)

Nach drei bis vier Tagen trat eine starke systemische Erkrankung der abgeriebenen Pflanze ein, die sich in Chlorosen, Adernaufhellungen und starker Verkümmerung der Pflanzen äußerte. Die Pflanzen starben nach drei bis vier Wochen ab.

Chenopodium quinoa Willd. (140/0)

Nach zwei bis drei Tagen erschienen auf den Abreibeblättern gelbliche Primärläsionen (Abb. 3 links). Nach drei bis fünf Tagen wurde die Pflanze stark systemisch krank. Die Chlorosen flossen ineinander über (keine Nekro-

sen), die jungen Blättchen wurden von der Blattbasis her chlorotisch aufgehellt und eingekrümmt und wurden schließlich ganz nekrotisch. Die Pflanzen starben nach ein bis zwei Monaten ab.

Abb. 3. Lokalläsionen des Virusisolates (links) und Lokalläsionen des Tabakringflekkenvirus (rechts) auf Blättern von *Chenopodium quinoa*. Foto: BBA (SCHÄLOW)

Chenopodium urbicum L. (10/2)

Als Primärsymptome kamen auf den Abreibeblättern nekrotische gezackte Linien, die sich zum Teil zum Ring schlossen, zum Vorschein. Die Pflanze erkrankte nach vier bis fünf Tagen systemisch unter Nekroseerscheinungen an den Jungblättern.

Beta vulgaris L. (Zuckerrübe) (0/10)

Die mit infektiösem Preßsaft abgeriebenen Zuckerrüben zeigten keine Symptome. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* ging negativ aus.

Phaseolus vulgaris L. (Saxa) (10 Lok.Läs./0)

Die Gartenbohnen reagierten nur mit Primärsymptomen, die aus zahlreichen kleinen Primärläsionen von 1,5 mm Durchmesser bestanden. Die Virose wurde nicht systemisch. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief negativ.

Trifolium incarnatum L. (0/10)

Der Inkarnatklee zeigte keine Symptome, auch der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief negativ.

Vicia faba L. (14/4)

Auf den Abreibeblättern waren keine Symptome zu erkennen. Dagegen traten auf den etwas eingekrümmten Folgeblättern kleine dunkelgrüne, blasige Stellen von etwa 2 bis 3 mm Durchmesser auf (Abb. 4); vereinzelt zeigten sich auch an den jüngsten Blättchen Nekrosen. Recht deutlich war eine durch die Infektion verursachte Wachstumshemmung zu beobachten. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief positiv.

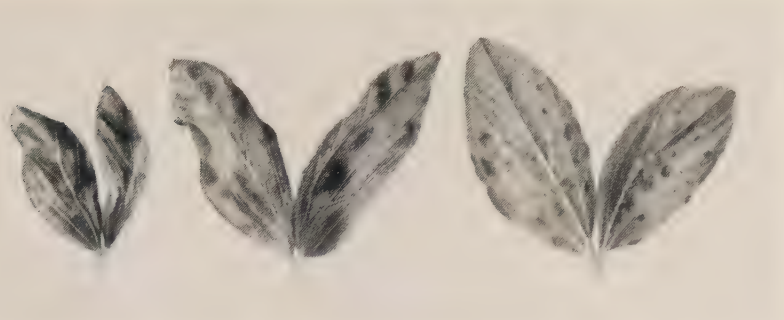


Abb. 4. Systemische Symptome des Virusisolates auf den Zuwachsblättern von *Vicia faba*. Foto: BBA (Schälow)

Cucumis sativus L. (0/12)

Gurken reagierten auf die Preßsaftverreibung nicht. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* war negativ.

Lychnis calcedonica L. (8/0)

Nach fünf bis sieben Tagen zeigten sich als systemische Symptome Blattverkrümmungen und Stauchung der Pflanzen. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief positiv.

Tropaeolum majus L. (5/3)

Nach eineinhalb bis zwei Wochen traten systemische Symptome auf. Sie äußerten sich in Adernaufhellungen und dunkelgrünen Blattpartien, die mit hellgrünen Blattpartien abwechselten (Abb. 5). Hinzu kam als weiteres Kennzeichen eine Brechung der Blütenfarbe. Der Rücktest auf *Chenopodium quinoa* verlief positiv.

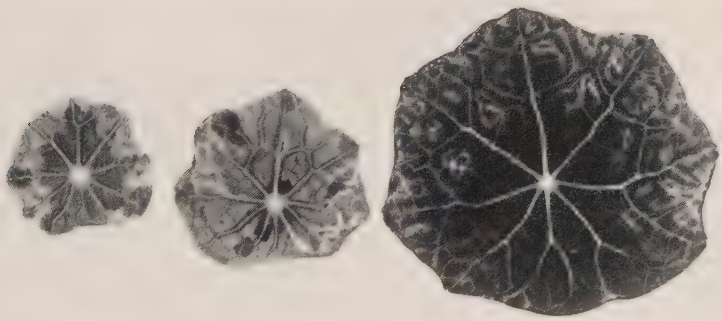


Abb. 5. Systemische Symptome des Virusisolates auf Blättern von *Tropaeolum majus*. Foto: BBA (Schälow)

Petunia spec. (8/2)

Systemische Symptome: Starke Verbeulung und Scheckung der Blätter.

Eigenschaften des Virus

Thermale Inaktivierung

Der unverdünnte, durch Zentrifugieren gereinigte Preßsaft wurde in Glasampullen eingeschmolzen, die bei der entsprechenden Temperatur 10 min im Umlaufthermostaten erhitzt und anschließend abgekühlt wurden. Der Preßsaft wurde nach der Temperaturbehandlung sofort abgerieben.

Bei drei Wiederholungen trat die Inaktivierung stets zwischen 62 und 65 °C ein.

Verdünnungsendpunkt

Bei einer Verdünnung von 1 : 1000 wurden noch zwei von sechs *Chenopodium quinoa*-Pflanzen infiziert. Bei einer Verdünnung von 1 : 2000 verliefen die Abreibungen negativ. Die Verdünnung wurde mit destilliertem Wasser durchgeführt.

Lebensbeständigkeit in vitro

Der unverdünnte, zentrifugierte Preßsaft wurde in Glasampullen gefüllt, die sofort zugeschmolzen und bei Zimmertemperatur dunkel aufbewahrt wurden. Die abgeriebenen Pflanzen reagierten noch mit Preßsaft positiv, der 24 Tage gealtert war. Preßsaft, der 30 Tage gealtert war, ergab keine Symptome auf den Testpflanzen.

Serologische Reaktion

Herr Dr. GEHRING führte — wofür ich ihm an dieser Stelle herzlich danken möchte — an dem Preßsaft kranker Tabakpflanzen serologische Reaktionen mit den Sera der Tabakringfleckenkrankheit und der Bukettkrankheit der Kartoffel durch. Beide serologischen Reaktionen verliefen negativ.

Blattlausübertragungen

Wiederholt wurden Übertragungen mit *Myzodes persicae* (Sulz.) durchgeführt. Von 30 Übertragungen von kranken *Chenopodium quinoa*-Pflanzen auf *Chenopodium quinoa* verliefen 22 Übertragungen positiv. Da sich bei den Vorversuchen ergeben hatte, daß die Virose kurzfristig blattlausübertragbar ist, wurden die Blattläuse nach einer Fastenzeit von einer Stunde jeweils 10 min auf kranke *Chenopodium quinoa*-Pflanzen gesetzt, hierauf mit einem Pinsel je fünf Blattläuse auf junge gesunde *Chenopodium quinoa*-Pflanzen gebracht und nach einer Saugzeit von 24 Stunden abgetötet. Die Ergebnisse zeigen, daß die Virose gut (kurzfristig) blattlausübertragbar ist.

Systematische Zugehörigkeit des Virus

Nach den Symptomen auf *Nicotiana tabacum* var. Samsun lag — ähnlich wie bei HEIN (1957) — die Vermutung nahe, daß es sich bei dem isolierten Virus um einen Stamm der Tabakringfleckenkrankheit handelt. Nachdem

aber festgestellt wurde, daß die Virose leicht durch Blattläuse zu übertragen war, erhoben sich Zweifel an dieser Diagnose, denn im allgemeinen ist die Tabakringfleckenkrankheit n i c h t durch Blattläuse übertragbar.

Es ist nun allerdings von K. M. Smith (1950) ein durch Blattläuse übertragbares Virus von *Tropaeolum* isoliert worden, das von dem Autor wegen der Ringfleckensymptome, die es auf Tabak hervorrief, zu der Tabakringfleckengruppe gestellt wurde. Über eine weitere Isolierung eines blattlausübertragbaren Tabakringfleckenvirus berichteten F. F. Smith und Brierly (1955), die ein solches Virus mit Blattläusen von Gladiolen (die allerdings mit einem Virusgemisch infiziert waren) auf Gladiolen übertrugen. Da nur wenige Angaben über dieses Virus vorliegen, konnte nur die Isolierung von K. M. Smith mit der eigenen Virusherkunft verglichen werden. Ein solcher Vergleich ergab eine weitgehende Ähnlichkeit der Symptome, die dieses nasturtium ringspot-Virus auf dem vom Autor erwähnten Wirte hervorruft (siehe K. M. Smith 1957), mit denen des eigenen Isolates auf diesen Pflanzen. Da aber das eigene Isolat — wie noch auszuführen sein wird — auf Grund seiner Symptome auf verschiedenen Wirtspflanzen zur Gruppe des Luzernemosaikvirus zu stellen sein dürfte, wird es für möglich gehalten, daß auch das von K. M. Smith beschriebene nasturtium ringspot in die Gruppe des Luzernemosaiks gehört.

Die Blattlausübertragbarkeit des nasturtium ringspot (K. M. Smith) fände so eine einfache Erklärung.

Die Symptome der eigenen Isolierung auf *Nicotiana tabacum* var. Samsun gleichen etwa dem „Quercinamuster", das durch einige der Isolate des Luzernemosaikvirus von Klinkowski (1956) und Quantz (1956) auf Tabak hervorgerufen wird. Symptome wie sie Klinkowski (1956), Quantz (1956) und Hein (1957) von anderen Isolaten beschrieben wie Primärnekrosen, mosaikartige Aufhellungen und Mäanderbandzeichnungen wurden in keinem Fall beobachtet.

Die Tatsache, daß bei einer Abreibung des Virusisolates auf *Phaseolus vulgaris* nur Lokalläsionen auftraten, läßt darauf schließen, daß das Virus zur ersten der beiden von Houston und Oswald (1953) unterschiedenen Gruppen des Luzernemosaikvirus gehört. (Stämme, die nur Lokalläsionen auf *Phaseolus vulgaris* hervorrufen, werden von den Autoren zur ersten, solche, die eine systemische Infektion hervorrufen, zur zweiten Gruppe gestellt.)

Von diagnostischer Bedeutung scheint auch die Reaktion der Gurke auf die verschiedenen Stämme des Luzernemosaiks zu sein. Ebenso wie die Isolate von Klinkowski (1956) und das Isolat 508 von Quantz reagierte die Gurke nicht auf eine Abreibung mit dem Virus, während die übrigen Isolate von Quantz (1956) und die Isolate von Hein zu einer systemischen Erkrankung der Gurke führten.

Chenopodium quinoa zeigte auf den Abreibeblättern chlorotische Primärläsionen (Abb. 3 links), die sich ganz eindeutig von den nekrotischen Primärläsionen unterschieden, die durch ein zum Vergleich herangezogenes Tabakringfleckenvirus hervorgerufen wurden. Die Abbildungen und Be-

schreibungen von HEIN (1957) und die Beschreibung von QUANTZ (1956) zeigen jedoch, daß für ihre Isolierungen des Luzernemosaikvirus nekrotische Primärläsionen typisch sind. Es muß angenommen werden, daß solche Unterschiede im Rahmen der Variationsschwankungen der Virose liegen. Als wesentliches Kriterium muß jedoch die systemische Erkrankung von *Chenopodium quinoa* bei einer Infektion mit dieser Virose angesehen werden, eine Reaktion, durch die sie sich zwar nicht vom Tabakringfleckenvirus, aber von vielen anderen Viren, etwa dem Gurkenmosaikvirus, unterscheidet.

Die Symptome auf *Vicia faba* (keine Primärläsionen, dunkelgrüne, blasige Stellen auf den Folgeblättern) weichen ebenfalls von den von QUANTZ (1956) und HEIN (1957) beschriebenen Symptomen ab. (Violettbraune Ringe und Flecke auf den Abreibeblättern, chlorotische Mosaikfleckung, zarte Linien und Ringmuster auf den Folgeblättern).

Abweichungen wie die beschriebenen zwischen den verschiedenen Stämmen des Luzernemosaikvirus finden sich in der Literatur immer wieder, so daß man den Eindruck gewinnt, daß es sich beim Luzernemosaikvirus um eine Virose mit ähnlicher Variationsbreite wie das Tabakringfleckenvirus handelt. Eine genaue Analyse der Verhältnisse läßt sich wohl erst durch Einführung standardisierter Testmethoden, wie sie THORNBERRY (1957) vorschlägt, erreichen.

Die Einordnung des untersuchten Virusisolates in die Gruppe des Luzernemosaikvirus wird daher als gerechtfertigt angesehen.

Es muß für die Zukunft gefordert werden, daß bei der Diagnose einer Virose wie der vorliegenden, die sich in Symptomatologie und Wirtspflanzenkreis stark mit einer anderen Virose deckt (Tabakringfleckenkrankheit), die Unterschiede in der Blattlausübertragbarkeit mehr als seither als diagnostisches Kriterium Berücksichtigung finden. Von den drei deutschen Autoren, die das Luzernemosaikvirus beschrieben haben, hat nur einer eine Blattlausübertragung durchgeführt (HEIN 1957), die nicht gelungen ist, „obwohl" (oder weil?) die Blattläuse nach einer Hungerzeit von zwei Stunden für vier Stunden (bei einer kurzfristig übertragbaren Virose!) auf der Infektionsquelle belassen wurden. Aus zahlreichen quantitativen Übertragungsversuchen ergab sich jedoch (erstmalig klar erkannt von WATSON und ROBERTS 1939), daß bei solchen Viren die optimale Infektionssaugzeit ein bis fünf Minuten beträgt, während bei längeren Infektionssaugzeiten mit einem wesentlich geringeren Infektionserfolg gerechnet werden muß. SWENSON (1952) führte solche Versuche gerade mit einem Stamm des Alfalfa-Virus durch und erhielt mit *Aphis gossypii* bei einer Hungerzeit von 30 min und einer Infektionssaugzeit von einer Minute bei insgesamt 40 Übertragungen auf *Capsicum frutescens* elf Infektionen, während er bei der gleichen Hungerzeit, der gleichen Zahl von Übertragungen, aber bei einer Infektionssaugzeit von 30 min, nur noch eine Infektion bekam!

Die physikalischen und chemischen Daten fügen sich in den Rahmen der Daten ein, die von anderen Autoren angegeben sind. Stark abweichend ist allerdings die Lebensbeständigkeit in vitro von 24 Tagen bei Zimmertemperatur; PIERCE (1934) ermittelte für das Luzernemosaikvirus als maxi-

malen Wert acht bis neun Tage, die Haltbarkeit war in anderen Fällen noch geringer. Bei allen früheren Untersuchungen wurde allerdings der Viruspreßsaft aus Tabak gewonnen und dieser nach der Alterung auf Tabak oder *Phaseolus vulgaris* abgerieben. Bei den eigenen Untersuchungen wurde der Preßsaft von systemisch erkrankten *Chenopodium quinoa*-Pflanzen verwendet, der nach der Alterung auf *Chenopodium quinoa* als Testpflanzen abgerieben wurde.

Zusammenfassung

Im Jahre 1956 wurden von im Freiland ausgesetzten Fangpflanzen von *Nicotiana tabacum* var. Samsun in drei Fällen ein blattlausübertragbares Virus unbekannter Herkunft isoliert. Auf Grund der Symptome, die dieses Virus auf verschiedenen Testpflanzen hervorrief, wird es der Gruppe des Luzernemosaikvirus zugeordnet. Allerdings bestehen in den Symptomen auf Tabak, Ackerbohne und *Chenopodium quinoa* sowie in der Alterungszeit Abweichungen von den bisher beschriebenen Isolaten des Luzernemosaikvirus. Sie sind jedoch nicht so weitgehend, daß die Zugehörigkeit zum Luzernemosaik in Zweifel gezogen werden könnte.

Summary

Investigations on an aphid-transmissible virus isolated from trap plants of tobacco

In 1956 an aphid-transmissible virus of unknown origin was found in three cases on trap plants of *Nicotiana tabacum* "Samsun" planted in the open. On the basis of the symptoms which this virus produced on various test plants it was classed in the lucerne mosaic group. Deviations from the isolates of lucerne mosaic so far described were observed in the symptoms on tobacco, field bean and *Chenopodium quinoa* and also in the aging time. They are, however, not so pronounced as to leave any doubt that the virus belongs to the lucerne mosaic group.

Literaturverzeichnis

Hein, A., 1957: Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. II. Das Luzernemosaik und das *Lamium*-Gelbmosaikvirus. Phytopath. Z. **29**, 79—116.

Houston, B. R., and F. W. Oswald, 1953: The mosaic virus disease complex of ladino clover. Phytopathology **43**, 271—276.

Klinkowski, M., in E. Köhler und M. Klinkowski: Viruskrankheiten. Handb. Pflzkrkht., Bd. II, 6. Aufl., 417—419.

— —, 1956: Chlorophylldefekte des Luzerneblattes, unter besonderer Berücksichtigung des Luzernemosaikvirus (*Marmor medicaginis* Holmes). Phytopath. Z. **26**, 377—400.

Pierce, W. H., 1934: Viroses of the bean. Phytopathology **24**, 87—115.

Quantz, L., 1956: Zum Nachweis des Luzernemosaikvirus in Deutschland und Italien. Phytopath. Z. **28**, 83—103.

Smith, F. F., and P. Brierly, 1955: Aphid transmission of tobacco ringspot virus in gladiolus. Plant Dis. Reptr. **39**, p. 39.

Smith, K. M., 1950: Some new virus diseases of ornamental plants. J. R. Hortic. Soc. London **75**, 350—353.

— —, 1957: A textbook of plant virus diseases. J. and A. Churchill Ltd., London. Second Edition.

Snell, K., 1936: Ankeimen von Kartoffeln im Herbst. Angew. Bot. **18**, H. 4/5.

Swenson, K. G., 1952: Aphid transmission of a strain of alfalfa mosaic virus. Phytopathology **42**, 261—262.

Thornberry, H. H., 1957: Diagnosis of viral diseases, proposal for standardized procedures. IV. Intern. Pflanzenschutz-Kongreß, p. 34.

Watson, M. A., and F. M. Roberts, 1939: A comparative study of the transmission of *Hyoscyamus* virus 3, potato virus y and cucumber virus 1 by the vector *Myzus persicae* (Sulz.), *M. circumflexus* (Buckt.) and *Macrosiphum gei* (Koch). Proc. R. Soc. London, Ser. B, **127**, 543—576.

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Untersuchungen des Blattrollens der Tomatenpflanzen

Von

T. Hack und H. Wartenberg

Inhalt: 1. Einleitung. — 2. Das Wachstum und die Symptome der Pflanzen im Gewächshause. — 3. Gestalt und Struktur des Rollblattes. — 4. Stoffliche Verhältnisse des Rollblattes. — 5. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

1. Einleitung

Das Blattrollen der Tomatenpflanzen ist eine anomale Erscheinung, über die in der Literatur nur Einigkeit in dem Urteil besteht, daß sie nicht das Symptom einer Infektionskrankheit ist. Häufig ist die Ansicht zu finden, daß das Ausgeizen, das Ausbrechen der Blattachseltriebe, ein Blattrollen verursache (Tracy 1917, Schoevers 1919, Güssow 1921, Widmor 1924 a und b, Stepanow 1930, Steinberg 1933 und Bremer 1941).

Bremer (1941) hat drei Formen des Rollens beschrieben: das Grundrollen, das Gesamtrollen und das Wipfelrollen. Das Grundrollen und das Gesamtrollen sei eine Folge der Assimilatstauung, die durch das Ausgeizen verursacht werde. Er fand, daß das Rollen sortenspezifisch ist. Die extremen „Rollsorten" haben nach Bremer auch dann ein „sortentypisches Gesamtrollen", wenn ihre Geiztriebe nicht ausgeschnitten werden. Es soll die Reaktion der Blätter auf die in unseren Breiten gegebenen Klimaverhältnisse sein.

Das Ausgeizen verursacht bei ein- bis dreitriebigen Freilandpflanzen immer ein Grundrollen; dagegen soll es bei den Gewächshauspflanzen kein Blattrollen irgendwelcher Art zur Folge haben, was Bremer auf geringere Assimilation im Gewächshause zurückführte. Ist das Blattrollen der Tomaten, wie Bremer es meint, die Folge einer Assimilatstauung, dann muß es auch an Gewächshauspflanzen zu erzeugen sein, wenn sie durch ein verstärktes Beschneiden in ihrer natürlichen Entwicklung, d. h. an der Verwertung der Assimilate im Wuchs der Sprosse, gehindert werden. Wie dies erreicht werden kann und wie die Veränderungen dabei auftreten, soll in der vorliegenden Abhandlung beschrieben werden. Letzten Endes geht es darum, Anhaltspunkte zum Stützen oder Widerlegen der Vorstellung zu gewinnen,

die Assimilatstauung sei die mechanische Ursache des Blattrollens. Mit fernerem Ziel hoffen wir auf einen Einblick in den Mechanismus und Chemismus des infektiös bedingten Blattrollens anderer Solanaceen.

2. Das Wachstum und die Symptome der Pflanzen im Gewächshause

Als Versuchspflanzen der Art *Lycopersicon esculentum* Mill. wurden die Sorten Johannisfeuer, Lukullus und Immun verwendet. Die Pflanzen kamen aus den Pikierkästen erst in 10er-, dann in 16er- und später in 24er-Töpfe mit Mist-Kompost-Erde. Da auch diese Töpfe zu klein wurden, düngten wir mit „Wolfener Spezialdünger".

Die Gewächshauspflanzen wuchsen als typische Schattenpflanzen mit dünnen weichen Blättern und großer Oberflächenentwicklung. Achselsprosse trieben kaum aus, ausgenommen die Achseltriebe unter den Infloreszenzen und später an den Ansatzstellen der schon abgestorbenen unteren Blätter. Nach dem Ausschneiden der wenigen Achselsprosse, die sich entwickelt hatten, wuchsen die Pflanzen noch mehr in die Höhe und rollten die Blätter nicht. Mit BREMER müßte man urteilen: das Verhältnis Assimilation/Wachstum sei so klein, daß es nicht — und auch nicht durch ein Ausbrechen der Achseltriebe — zur Anhäufung von Assimilaten kommen könne, weil die Assimilate gleich beim Aufbau des neuen Blattmaterials verbraucht würden.

Um das Assimilations-Wachstums-Verhältnis noch weiter zu vergrößern, haben wir Pflanzen geköpft, d. h. wir haben auch die Terminaltriebe abgeschnitten, als das 13. Blatt schon deutlich zu erkennen war.

Die geköpften und von ihren Blüten befreiten Pflanzen werden im nachfolgenden Text verkürzt als B-Pflanzen, die unbeschnittenen Kontrollpflanzen als A-Pflanzen bezeichnet.

Als Folge des Köpfens entstanden viele Achselsprosse, die wir — ebenso wie die entstehenden Infloreszenzen — entfernten. Nach 20 bis 25 Tagen begannen auch diese Pflanzen mit einem Blattrollen der untersten Blätter.

Das Rollbild glich dem früher in der Literatur beschriebenen und von BREMER bezeichneten Grundrollen. Es begann an den untersten Blättern und setzte sich langsam nach oben fort. Die einzelnen Fiederblätter bogen ihre Ränder nach oben, rollten sich tütenförmig zusammen und waren nachher spröde und brüchig. Sie fielen auch im Gegensatz zu den Blättern der A-Pflanzen durch die dunkelgrüne Färbung auf. Das Rollen war irreversibel. Während die gleichaltrigen, ungerollten Blätter der A-Pflanzen, vom ältesten Blatt an beginnend, abstarben, blieben die gerollten noch lange lebend.

Es ist noch nicht mit Sicherheit festgestellt, ob die dunklere Grünfärbung der gerollten Blätter von einem Anreichern des Chlorophylls herrührt. Man muß auch erwarten, daß bei der Tomatenpflanze Oxydationsstufen anderer Stoffe verdunkelnd wirken.

Weder phyllogene Sprosse noch chlorophyllfreie Protuberanzen an der Basis eines Fiederstiels, aus denen sich blattbürtige Sprosse hätten entwickeln können, waren an den gerollten Blättern der Gewächshauspflanzen zu finden. Sie traten unter Freilandbedingungen häufig an den gerollten Blättern

auf, wie es BREMER (1941) beschrieben und WIELING (1952) näher untersucht hatte.

Es ist also möglich, auch unter den Bedingungen des Gewächshauses das Rollen an Tomatenblättern durch besonders starkes Beschneiden zu erreichen. Beginn und Stärke des Rollgrades war je nach Tomatensorte verschieden.

BREMER reihte die Tomatensorten nach ihren Rollneigungen in drei Gruppen ein. Aus dieser Reihe wählten wir als Nichtrollsorte Immun, als Mittelrollsorte Lukullus und als Rollsorte Johannisfeuer. Ähnlich wie im Freiland waren die drei Sorten auch im Gewächshause schon ungegeizt recht unterschiedlich, wobei Johannisfeuer mit starkem Wuchs und reicher Verzweigung das Gegenstück zu der gedrungen und mit wenigen Achselsprossen wachsenden Nichtrollsorte Immun bildete. Immun und Lukullus rollten unter diesen Bedingungen nicht, dagegen war bei Johannisfeuer eine geringe Neigung zum Rollen festzustellen, allerdings nicht in dem Ausmaß, wie man es im Freiland findet. Die geköpften Pflanzen verhielten sich innerhalb einer Sorte einheitlich. Die Sorten waren bezüglich des Beginnens der Rollerscheinung und in der Stärke des Rollgrades verschieden. Johannisfeuer begann schon nach sieben Tagen mit dem Einrollen der Blätter. Bei Lukullus waren die ersten Anzeichen eines Blattrollens erst nach 16 Tagen zu beobachten, und der Rollgrad war während der gesamten Versuchszeit schwächer als der von Johannisfeuer. Beide Sorten, Johannisfeuer und Lukullus, verhielten sich so, wie nach den Untersuchungen von BREMER zu erwarten war.

Bei Immun war zuerst das sortentypische Abknicken der Fiederblättchen gegen die Rhachis zu sehen, aber später rollten diese Blätter in gleicher Weise wie bei den anderen Sorten. Das Rollen setzte bei der Sorte Immun im Gegensatz zu Johannisfeuer und Lukullus später ein und war schwächer, aber doch deutlich zu erkennen.

Das Wachstum und die anomale Formbildung konnten bei den jüngeren Blättern anders ausfallen, d. h. andere Gestalten zur Folge haben, als bei den älteren Blättern der ausgegeizten und geköpften Tomatenpflanzen, was eingehender beschrieben werden muß.

3. Gestalt und Struktur des Rollblattes

Die auffallend anomalen Formbildungen der ausgegeizten und geköpften Tomatenpflanzen haben immer mit dem Einrollen der ältesten Blätter begonnen. Vorher hatte schon — weniger auffallend — ein luxurierendes Wachstum eingesetzt, das nach dem endgültigen Blattrollen aufhörte. Bei den jüngeren Blättern war als anomal zu vermerken, daß sie schneller als ihre Vergleichspartner, d. h. als die gleichinserierten Blätter der nichtausgegeizten und nichtgeköpften Normalpflanzen, wuchsen und in einen Riesenwuchs mit grotesken Formen ausarteten, die schließlich auch in ein Blattrollen übergingen. Die jüngeren Blätter erreichten das Endstadium, das Blattrollen, um so später, je jünger sie waren, was zur Folge hatte, daß ihr luxurierendes Wachstum länger andauerte. Sie konnten nach sechs Wochen das dreifache Gewicht der gleichinserierten Blätter normaler Pflanzen erreicht haben.

In Tabelle 1 sind die Blattgewichte normaler Pflanzen und die Gewichte gleichinserierter Blätter ausgegeizter und geköpfter Pflanzen eines Versuches zum Vergleich gestellt. Die zu vergleichenden Größen sind ermittelt worden, indem 25 ausgesuchte, gleichmäßig gewachsene Jungpflanzen in fünf Gruppen eingeteilt wurden, von denen wir die Pflanzen einer Gruppe beim Beginn des Versuches entblätterten, als zwei Gruppen,

also zehn Pflanzen, versuchsplanmäßig ausgegeizt und geköpft werden mußten. Die Pflanzen der letzten zwei Gruppen blieben als Vergleichspartner unberührt. Nach 16 und nach 44 Tagen sind dann je eine Gruppe der ausgegeizten und parallel dazu je eine Gruppe der unberührten Pflanzen entblättert worden. Die Zahlen in Tabelle 1 sind die Durchschnittsgewichte der — von unten gezählt — an 4., 8., 10. und 13. Stelle inserierten Blätter jeder der fünf Gruppen.

Tabelle 1

Entwicklung der Blattgewichte
an ausgegeizten und geköpften Tomatenpflanzen (B)
im Gegensatz zu Pflanzen im normalen Wachstum (A)

Insertion der Blätter	Durchschnittliche Blattgewichte in Gramm am		
	8. Mai 1957	24. Mai 1957	21. Juni 1957
	A = B	A / B	A / B
4. Blatt	0,67	1,67 / 3,12	— / 4,17
8. Blatt	2,68	5,13 / 6,79	6,11 / 10,05
10. Blatt	2,82	5,50 / 7,57	6,59 / 13,00
13. Blatt	1,76	4,68 / 6,98	7,24 / 20,24

Aus der Tabelle geht hervor, was oben schon beschrieben wurde, daß das luxurierende Wachstum der Blätter ausgegeizter Pflanzen bei den jüngeren Blättern bedeutend stärker als bei den älteren war. Die ältesten Blätter der A-Pflanzen konnten am 21. 6. 57 nicht mehr zum Vergleich gestellt werden, weil sie schon abgestorben waren. Bei den B-Pflanzen sind sie dagegen turgeszent und dunkelgrün geblieben. Das Ausgeizen hatte also bei den älteren Blättern lebensverlängernd gewirkt. Bei den Blättern, die zur Zeit des Ausgeizens die jüngsten waren, hatte es nicht nur ein verstärktes Wachstum, sondern auch eine Verlängerung der Wachstumsperiode verursacht.

Ein anderer wesentlicher Unterschied zwischen den A- und B-Pflanzen, der stark beeindruckt, kann nicht in gemessenen Werten dargestellt werden. Die normalwachsenden A-Pflanzen behielten weiche und elastische Blattfiedern, wogegen die Blattfiedern der ausgegeizten und geköpften B-Pflanzen nach dem Blattrollen zuletzt steif, raschelnd und brüchig waren. Wäre die Oberfläche des Rollblattes zu messen gewesen, dann hätten wir die veränderte Struktur der Rollblätter als erhöhten Sukkulenzgrad berechnen können. An den unregelmäßigen und grotesken Formen der Rollblätter, besonders die der höheren Insertionen nach dem luxurierenden Wachstum, scheiterten alle Versuche, Oberflächen zu messen und nach der Formel „Oberfläche/Gewicht" die Oberflächenentwicklung bzw reziprok angenäherte Relativwerte der Sukkulenz, zu berechnen.

Es ist nicht ganz richtig, alle späteren grotesken Formbildungen der jüngeren Blätter ausgegeizter und geköpfter Pflanzen als Blattrollen zu beschreiben. Bei den jüngeren Blättern kam oft nicht das Aufbiegen der Fiederblattränder und das tütenförmige Einrollen der Lamina nach der Blattoberseite, sondern ein anderes anomales Wachstum zustande.

Die Tomatenpflanze ist ähnlich wie die Kartoffelpflanze ein vorzügliches Demonstrationsobjekt der Prinzipien des Pflanzenlebens, denn sie übertreibt alles bis ins Drastische. Beim Hinunterrücken der Wachstumszone des Blattes von der Blattspitze zum Blattgrunde vermehrt sich das Längenwachstum der Rhachis, je weiter das interkalare Wachstum sich auf den Blattgrund konzentriert. Es erweist sich dabei, daß die Fiedern nicht als Paare streng gegenständig sind, sondern im Sinne wechselständiger Anordnung voneinander abrücken können. Im Wachstum der jüngeren Blätter ausgegeizter und geköpfter Pflanzen erreicht das interkalare Längenwachstum der Blattspindel und auch der Fiederspindel das Zweifache der normalen Länge.

Was oben über die verlängerte Wachstumsperiode der jüngeren Blätter der B-Pflanzen gesagt wurde, gilt auch für die Verhältnisse innerhalb eines jungen Blattes: die Wachstumszone rückt zwar wie beim normalen Blatt zur Blattbasis hinunter, bei den Teilen spitzenwärts klingt aber das Wachstum nicht so schnell ab, was eine verlängerte Periode bedeutet. Das Nachhalten der Wachstumsfähigkeit in den jungen Blättern der B-Pflanzen ist nicht so proportioniert wie das Wachstum in den jungen Blättern der A-Pflanzen. An den Rändern und in den Spreiten der Fiedern klingt das Wachstum schneller ab als in den Haupt- und Fiederrippen. Dasselbe, was in den jungen Blättern das epinastische Wachstum bewirkt, mag auch das unproportionierte Wachstum an der Oberseite der Blattrippen mit verursachen, jedenfalls äußert sich das luxurierende Wachstum der jüngsten Blätter bei den B-Pflanzen in einem grotesk übertriebenen epinastischen Wachstum in den Spreiten der Fiedern. Merkenschlager (mündl. Mitteil. 1931) nannte es einmal im Gegensatz zum Blattrollen: das Löffeln. Die Fiederrippen biegen und knicken in Richtung zur Blattoberseite durch und wölben die Spreite nach oben auf, weil die Ränder der Fiederspreiten im Wachstum zurückbleiben.

Das „Löffeln" jüngerer Blätter blattrollkranker Tomatenpflanzen darf nicht mit dem bekannten Symptom des Kalimangels verwechselt werden, das ebenfalls ein Hinabbiegen der Blattränder zur Folge hat, das dem epinastischen Wachstum ähnlich ist. Letzteres ist durch die chlorotische und albinotische Mosaikfleckung und durch die Verkürzung der Blattstiele bzw. Blatt- und Fiederkiele sowie Blatt- und Fiederrippen charakterisiert. Ersteres zeigt im Gegensatz dazu grundsätzlich das Verlängern dieser Teile und hierdurch das Knicken in der Formbildung.

Bei den Blättern, die zur Zeit des Ausgeizens und Köpfens der Pflanze schon älter sind, kann kein Mitwirken der epinastischen Wachstumstendenz erreicht werden. Hier greifen die Dinge der anomalen Situation, die durch das Ausgeizen und Köpfen entstanden ist, in das übermäßig ein, was man die hyponastische Tendenz nennen kann und was mitspricht, wenn sich eine negativ-geotropische Reaktion gegen schwache Epinastie und mechanischen Hebeldruck des Blattgewichtes richtet. Es wachsen dabei die Unterseiten der Blattrippen (Phloemseiten) stärker als die Oberseiten (Xylemseiten), was zum eigentlichen Blattrollen führt.

Der Gegensatz, daß durch das Ausgeizen und Köpfen der Pflanzen bei den jüngeren Blättern die epinastische und bei den älteren die hyponastische Tendenz des Wachstums übertrieben gefördert wird, ist leicht zu verstehen.

Mit dem Altern der Blätter mindert sich ja die epinastische Wachstumstendenz, wie jeder weiß, der einmal das epinastische Blattwachstum am Klinostaten zu demonstrieren hatte. Übrig bleibt die hyponastische Tendenz, die dem Blatt noch lange Zeit die plagiotrope Haltung gegen den Zwang des Hebelgewichtes sichern muß.

Bei Blättern, die in halber Entwicklung von der Wirkung des Geizens und Köpfens überrascht werden, bei denen also zwischen Spitzenfiedern und Grundfiedern schon eine Differenz im physiologischen Alter entwickelt war, können die physiologisch älteren Spitzenfiedern mit Blattrollen und die jüngeren Grundfiedern mit Blattlöffeln reagieren. Das Umschlagen der Reaktionsnorm im Gang des physiologischen Alterns kann sich auch in einzelnen Fiedern bemerkbar machen. Es kann sein, daß der physiologisch ältere Fiederspitzenteil „rollt" und der jüngere Fiedergrund „löffelt", was in der Haltung zum „Abknicken der Fiedern von der Rhachis" führt. Innerhalb eines Blattes sind es die grundständigen Fiedern, die vornehmlich solche Haltung einnehmen, während die spitzennahen Fiedern total rollen.

Die Dinge zu sehen und zu erkennen ist nur möglich, wenn man die Vorgänge wiederholt unter gleichmäßigen und möglichst konstanten Außenbedingungen kontinuierlich vergleichend verfolgt. Weil sie nicht in gemessenen Größen zu registrieren sind, ist man weitgehend auf die Dialektik der morphologischen Induktion angewiesen, wobei man in die Gefahr kommt, daß im Sinne der Goethe'schen Morphologie das Schauen des Künstlers mehr als das Sehen des Wissenschaffenden mitspricht. Wer das System des Blattrollens unter den wechselnden und ungleichen Bedingungen der Freilandpflanzen sehen will, stößt auf viele widersprechende Erscheinungen, und wird oft durch das Wipfelrollen irritiert, dessen Ursache noch unklar ist, obgleich es das Symptom einer mykogenen Toxis zu sein scheint.

Unter allen Symptomen des Blattrollens, die durch Messungen nur ungenügend sicher erfaßbar waren, gab es eine Erscheinung, deren Entstehen gemessen werden konnte, ohne daß man die Pflanze zu entblättern, also zu zerstören brauchte. Es war ein Merkmal, das dem Riesenwuchs der Blätter gut proportioniert parallel ging, sozusagen seine Funktion war, und sich im Laufe der Entwicklung der Dinge gut und genau messen ließ. Beim luxurierenden Wachstum der Blätter, besonders beim Riesenwuchs der oberen Blätter, war ein grotesk übertriebenes Anschwellen der Blattstielbasen auffallend. Wir haben die Entwicklung der Querschnitte dieser anomalen Blattstielbasen der ausgegeizten und geköpften B-Pflanzen im Vergleich zu den normalen der unbeschnittenen A-Pflanzen messend verfolgt. (Vergl. Tab. 2).

Der Querschnitt des Blattstiels hat annähernd die Form einer Ellipse. Die großen und die kleinen Halbachsen konnten mit einer Schublehre an den Blattstielen gemessen werden, und zwar an deren dicksten Stellen, woraus dann die Querschnitte zu errechnen waren. Die Sicherheit der so berechneten Werte mußte durch einen Vergleich mit graphisch ausgezählten Werten ermittelt werden. Dabei stellte sich heraus, daß die verschieden gewonnenen Werte kaum differierten.

Als Ergebnisse der Messungen stellten sich folgende Unterschiede zwischen den A- und B-Pflanzen heraus. Die Blattstielbasen der 8. bis 10. Blätter, d. h. der ältesten Blätter der A-Pflanzen hatten offenbar den normalen maximalen Querschnitt von 25 bis 35 mm^2 bald nach dem Versuchsbeginn erreicht gehabt.

Tabelle 2

Die Querschnittsgrößen der Blattstielbasis nach dem Ausgeizen und Köpfen der B-Pflanzen am 25. Juli 1956 im Gegensatz zu den A-Kontrollpflanzen

Insertion der Blätter	Mittelwerte größter Querschnitte der Blattstielbasen in mm² gemessen am							
	25.7	27.7	4.8	14.8	25.8	4.9	13.9	21.9
Entgeizte und geköpfte B-Pflanze								
8. Blatt	34,0	34,8	37,5	40,4	42,2	42,6	44,1	45,2
9. Blatt	34,1	35,0	38,0	40,4	43,0	44,6	49,1	51,8
10. Blatt	32,4	33,0	36,1	40,6	44,1	50,0	52,6	57,1
11. Blatt	27,0	27,5	30,0	34,0	37,5	49,9	58,9	70,5
12. Blatt	16,6	17,4	20,6	27,5	35,7	48,8	61,0	71,1
13. Blatt	11,5	12,3	16,1	24,6	39,4	54,0	80,5	92,9
14. Blatt	8,1	9,0	14,5	31,2	55,0	70,8	90,7	109,1
15. Blatt	7,3	11,2	23,8	58,3	78,1	94,2	113,0	127,5
Unbehandelte A-Pflanze								
8. Blatt	—	27,6	28,8	29,5	29,8	30,4	31,2	33,1
9. Blatt	—	25,0	25,8	26,6	27,3	29,7	31,3	32,6
10. Blatt	—	25,4	26,7	27,1	28,1	30,8	32,5	33,9
11. Blatt	—	22,0	24,1	24,8	26,3	27,4	29,2	35,0
12. Blatt	—	17,7	18,8	20,3	23,5	25,6	30,9	35,6
13. Blatt	—	11,6	15,1	18,2	20,9	26,4	32,1	35,9
14. Blatt	—	7,6	12,7	18,9	24,0	28,1	34,0	37,5
15. Blatt	—	6,8	10,6	14,7	20,1	27,8	33,1	37,2

Hiermit schien ihr Wachstum zu einem gewissen Abschluß gekommen zu sein. Was alle jüngeren Blätter der A-Pflanzen nach acht Wochen erreichen konnten, lag in derselben Größenordnung. Eine ähnliche maximale Wachstumsgröße (35 mm²) hatten beim Versuchsbeginn auch die Blattstielbasen der schon erwachsenen 8. und 9. Blätter aus der Reihe der B-Pflanzen erreicht, und die Querschnitte der Blattstielbasen aller jüngeren Blätter waren je nach der Insertionshöhe von gleicher Größe wie ihre Vergleichspartner in der Reihe der A-Pflanzen. Im Wachstum während der Versuchsdauer (8 Wochen) verhielten sie sich aber anders als ihre Partner. Sie stellten nach dem Erreichen der normalen Maximalgröße von ± 35 mm² das Wachstum nicht ein, sondern wuchsen nach dem Köpfen der Pflanzen um so mehr über diese Größe hinaus, je jünger die Blätter beim Versuchsbeginn waren. Wir betonen: „je jünger die Blätter beim Versuchsbeginn waren"! Die jüngsten erreichten dabei nahezu die vierfache Querschnittsgröße.

Eine vergleichende anatomische Untersuchung ergab drei Unterschiede. Das Markparenchym nahm im Bilde des Stielquerschnittes fast den dreifachen Flächenraum ein. Die einzelnen Zellen waren zwar etwas hypertro-

phiert, die Vergrößerung des Markparenchyms konnte aber nicht auf die Zellhypertrophie allein zurückgeführt werden; die Anzahl der Zellen war auch vermehrt, und man konnte sehen, daß eine sekundäre Zellteilung stattgefunden hatte, daß Parenchyme wieder teilungsfähig geworden waren, wie man es bei Vergallungen finden kann, wo in der Folge anomaler Drücke und Zugspannungen des Gewebes in einzelnen Zellen die Teilungsfähigkeit wieder aufkommen kann.

Eindrucksvoll waren auch die Unterschiede im Gefäßbündelhalbring der Blattspurstränge. Das Xylem hatte im Radius des Stielquerschnittes die doppelte Tiefe und deutete zwei Schichten an, die an Jahresringe erinnerten. Neubildungen aus einem Kambium heraus, eine Art Hyperplasie, war auch im Phloemteil festzustellen. Zwischen der innersten Schicht des Rindenparenchyms, die auch im normalen Blattstiel deutlich abgesetzt ist und vielleicht eine Stärkescheide genannt werden kann, und dem Xylem, wo im normalen Blatt die Zellen des Phloems und der Markstrahlen nur schwach angedeutet zu sehen sind, waren diese Gewebeelemente nun auffallend ausgeprägt.

4. Die stofflichen Verhältnisse des Rollblattes

Obwohl die Gestalts- und Strukturdifferenzen zwischen dem Normal- und dem Rollblatt der Tomate und insbesondere der Riesenwuchs schon darauf hingewiesen haben, daß nicht ein ungünstiges Verhältnis Assimilation/Wachstum und eine hierdurch verursachte Stärkestauung in den Blättern das Blattrollen verursachten, wollten wir noch ergründen, ob quantitative Stoffanalysen unserer Tomatenpflanzen für die BREMERsche These sprechen können oder ihr widersprechen müssen.

Zu diesem Zwecke wurden Freilandpflanzen und Gewächshauspflanzen entgeizt und geköpft und nach einer Wachstumszeit, in der sich die Differenzen in den Gestalten und Strukturen bis zur vollen Ausprägung der Symptome entwickelt hatten, in Trockensubstanz-, Asche- und Stärkegehaltsbestimmungen mit gleichinserierten Blättern gleichaltriger, unbeschnitten gewachsener Pflanzen verglichen.

Die grundsätzliche Versuchsfrage lautete: „Ist bei den Rollblättern eine Assimilatstauung gegeben?“ Wie die Assimilatstauung mechanisch das Blattrollen verursachen kann, war eine zweite Frage. Sie brauchte erst bearbeitet zu werden, wenn die erste Frage positiv beantwortet werden konnte. Eine Assimilatstauung mußte in jedem Falle auf eine ungenügende Ableitung der Assimilate zurückzuführen sein, und die ungenügende Ableitung war bestens an dem Stärkerest festzustellen, der morgens in den Blättern vorgefunden werden mußte, weil er nachts nicht abgeleitet wurde.

Das Frischmaterial wurde deshalb frühmorgens abgenommen, äußerlich gereinigt und nach maximaler Wasseraufnahme bei voller Turgeszenz gewogen. Hierauf ist es durch kurzes Erhitzen im Dampftopf getötet und im Trockenschrank 24 Stunden bei 60 °C getrocknet worden. Die gewogene und gewichtskonstante Trockenmasse wurde pulverisiert und bis zur weiteren Verwendung in gut verschlossenen Glasröhren aufbewahrt.

Für die Feststellung des Aschegehaltes sind vom Trockenpulver jeder Versuchsfraktion drei Proben von je 300 mg entnommen, in breite Veraschungstiegel eingewogen und im Muffelofen mit langsam ansteigender Temperatur, letztlich bei 700 °C, verascht worden. Temperaturen über 700 °C haben wir sorgsam vermieden.

Der Stärkegehalt der Blätter bzw. des Trockenpulvers der Blätter ist mit der Methode von Steiner und Gubrie (1944) gemessen worden. Sie benützt die optische Aktivität der Stärke und wird nicht durch das Amylose-Amylopektin-Verhältnis gestört, da beide Komponenten die gleiche spezifische Drehung haben (Paech und Tracey 1955). Im Gegensatz zu den Methoden, die auf der Hydrolyse der Stärke und nachfolgender Messung der reduzierenden Zucker beruhen, hat sie den Vorteil, daß die Messung bei ausreichender Sicherheit verhältnismäßig schnell und einfach auszuführen ist.

Die Blattproben der Freilandpflanzen hatten 21 Insertionsstufen, die wir durch Zusammenfassen auf die vier Gruppen 6—10, 11—13, 14—17 und 18—21 reduzierten. Von den Gewächshauspflanzen konnten Blätter von 7 Insertionsstufen abgenommen werden, die in die drei Gruppen 3—10, 11—13 und 14—17 zusammengefaßt wurden.

Bei den Gewächshauspflanzen war wegen der streng alternierenden Gestalten und Strukturen der unbeschnittenen A- und der ausgegeizten und geköpften B-Pflanzen nur eine einfache Gegenüberstellung möglich. Unter den gegeizten und rollenden B-Pflanzen der Freilandkulturen waren dagegen schwächere und stärkere Roller zu unterscheiden, weshalb dort eine zweifache Gegenüberstellung A : B_1 (normal : schwächere Roller) und A : B_2 (normal : stärkere Roller) geordnet werden konnte.

In Tabelle 3 sind die Trockensubstanzprozente der Blätter aller Versuchsfraktionen vergleichbar dargestellt. Tabelle 4 bietet die Möglichkeit eines Vergleiches der Ascheanteile normaler und rollender Blätter. Schließlich enthält die Tabelle 5 eine vergleichbare Zusammenstellung der Stärkegehalte (Stärkereste!) normaler und rollender Blätter in Prozenten der Frisch- und Trockengewichte.

Beim Vergleich der Zahlen in den Tabellen 3 bis 5 ist zunächst die bekannte antibate Beziehung von Blattalter und Trockensubstanzgehalt und die ebenso reguläre symbate Beziehung von Blattalter und Aschegehalt festzustellen. Mit dem physiologischen Alter stieg der Wassergehalt bzw. fiel der Trockensubstanzgehalt und stieg der Aschegehalt.

Ferner ist festzustellen, daß der Stärkegehalt, d. h. die Reststärke frühmorgens, bei den Tomatenblättern allgemein sehr gering war. Er schwankte zwischen 0,1 und 0,6 % der Frisch- und zwischen 1,3 und 4,3 % der Trocken-

Tabelle 3

Trockengewichte

normaler Blätter, unbeschnittener (A), sowie schwächer rollender (B_1) und stärker rollender (B_2) Blätter entgeizter Tomatenpflanzen in Prozenten der Frischgewichte

		Insertionsgruppen der Blätter			
		6—10	11—13	14—17	18—21
Freilandpflanzen	A	—	11,3	11,5	13,6
	B_1	13,5	13,4	13,7	14,0
	B_2	10,7	11,4	11,7	13,6

		Insertionsgruppen der Blätter			
		3—10	11—13	14—17	
Gewächshauspflanzen	A	8,8	9,4	10,0	
	B	8,7	9,6	10,6	

Tabelle 4

Aschegewichte

normaler Blätter, unbeschnittener (A) und schwächer rollender (B_1) sowie stärker rollender (B_2) Blätter entgeizter Tomatenpflanzen in Prozenten der Frischgewichte (%F) und der Trockengewichte (%T)

		Insertionsgruppen der Blätter							
		6—10		11—13		14—17		18—21	
		%F	%T	%F	%T	%F	%T	%F	%T
Freilandpflanzen	A	—	—	2,8	25	2,5	21	3,2	16
	B_1	3,2	23	2,7	21	2,1	16	1,6	11
	B_2	3,1	29	2,8	25	2,1	18	1,6	12

		Insertionsgruppen der Blätter					
		3—10		11—13		14—17	
		%F	%T	%F	%T	%F	%T
Gewächshaus-pflanzen	A	2,8	32	2,5	27	2,3	23
	B	2,6	29	2,5	26	2,2	21

Tabelle 5

Stärkegehalte (Stärkereste morgens)

normaler Blätter, unbeschnittener (A) und schwächer rollender (B_1) sowie stärker rollender (B_2) Blätter entgeizter Tomatenpflanzen in Prozenten der Frischgewichte (%F) und der Trockengewichte (%T)

		Insertionsgruppen der Blätter							
		6—10		11—13		14—17		18—21	
		%F	%T	%F	%T	%F	%T	%F	%T
Freilandpflanzen	A	—	—	0,18	1,6	0,22	1,9	0,48	3,5
	B_1	0,25	1,9	0,29	2,1	0,35	2,5	0,60	4,3
	B_2	0,20	1,9	0,23	2,0	0,28	2,4	0,59	4,5

		Insertionsgruppen der Blätter					
		3—10		11—13		14—17	
		%F	%T	%F	%T	%F	%T
Gewächshaus-pflanzen	A	0,13	1,5	0,16	1,7	0,27	2,7
	B	0,11	1,3	0,18	1,9	0,29	2,7

substanz. Auch hier stellte sich eine antibate Beziehung von Blattalter und Stärkegehalt heraus. Je älter das Blatt war, um so geringer war sein Gehalt an Reststärke. Der Altersunterschied der Blätter machte sich im Unterschied der Stärkegehalte mehr als im Unterschied der Trockensubstanzgehalte bemerkbar. In älteren Blättern fanden wir kaum 50 % der Reststärke jüngerer Blätter. Der Trockensubstanzgehalt war dagegen nur auf etwa 80 % geschwunden.

Die regulären Altersstufenverhältnisse waren sowohl in der Reihe der Normalblätter als auch in der Reihe der minder und stärker gerollten Blätter vorhanden. Hier in den Altersreihen sind die Differenzen viel größer als im Unterschied zwischen Normalblättern und gleichaltrigen gerollten Blättern. Dort ist nur eine schwache Andeutung in den Wertverhältnissen so gerichtet, als ob man sagen könnte, daß das Ausgeizen eine Hemmung des natürlichen Alterns zur Folge gehabt hätte. Die Wertunterschiede deuten dies aber nur durch eine gewisse Regelmäßigkeit an. An sich sind sie so gering, daß sie wahrscheinlich größtenteils innerhalb der Fehlergrenze liegen.

5. Besprechung der Ergebnisse

Zunächst ist zu sagen, daß das Ausgeizen und das Köpfen der Tomatenpflanzen auch bei Gewächshauspflanzen ein Blattrollen zur Folge haben konnte.

Sodann ist darauf hinzuweisen, daß solches Beschneiden der Tomatenpflanzen für die Blätter ein um so stärkerer Wachstumsanlaß wurde, je jünger diese im Moment des Beschneidens waren. Junge Blätter konnten nachher die dreifache Wachstumsleistung gleichaltriger Blätter normal gewachsener Pflanzen erreichen. Ältere Blätter brachten es höchstens auf die zweifache Leistung. Das zusätzliche Wachstum war zum Teil auf eine größere Wachstumsgeschwindigkeit und zum Teil auf eine Verlängerung der Wachstumsperiode des Organs zurückzuführen.

Das Entfernen der Geiztriebe und des Gipfelsprosses wirkte auf die Organe lebensverlängernd. Sie blieben länger wachstumsfähig. Bei den ältesten Blättern der ausgegeizten Pflanzen, die gewöhnlich bei normal wachsenden Pflanzen schon absterben, während die jüngeren noch stark im Wachstum sind, setzten die funktionelle Chlorose und die Altersnekrose sehr viel später als bei den normal gewachsenen Pflanzen ein.

Das beschleunigte Wachstum und die Periodenverlängerung waren von Organ zu Organ und von Organteil zu Organteil nicht so proportioniert wie beim Wachstum der normal wachsenden Pflanze. Hierauf muß die groteske Gestaltsformung und die Disproportionierung von Wachstumsprinzipien zurückgeführt werden. Junge Blätter und Blattfiedern waren in der verlängerten Wachstumsperiode übertrieben epinastisch reaktionsfähig, was durch unproportioniert verstärktes Wachstum der Blattoberseite zum „Löffeln“ der Blätter, zum Einrollen der Blattunterseite, führte. In physiologisch älteren Blättern, die nicht nur gegen die epinastische Tendenz sondern, um zur normalen Blatthaltung kommen zu können, auch gegen die Hebelwir-

kung des Blattgewichtes wachsen müssen, konnte die hyponastische Tendenz, die dies bewirkt, grotesk übertrieben werden. Die Unterseiten der Blattfiedern, insbesondere der Fiederkiele und -rippen, wuchsen dann stärker als die Oberseiten, wodurch es zum Aufrollen der Blätter, zu dem eigentlichen Blattrollen kam.

Die Hypertrophie in epinastischer Tendenz konnte im physiologisch jüngsten Teil des Blattes, im Blattgrund, nachhaltig sein, wodurch die Erscheinung zustande kam, daß an einem Blatt die Fiedern hyponastisch „rollten", das ganze Blatt aber durch die Wachstumsbewegung des Blattgrundes sich epinastisch zum Stengel hinab bewegte und nachher eine starre Haltung nach unten hatte.

Aus der oben beschriebenen Deutung der Morphogenese eines Blattrollens ausgegeizter Tomatenpflanzen geht schon hervor, daß man das Ganze nicht auf eine Assimilatstauung — auch Stärkeschoppung genannt — zurückführen kann. Vergleichende Untersuchungen der Trockensubstanz-, Asche- und Stärkegehalte der Blätter normal gewachsener und der Rollblätter ausgegeizter Tomatenpflanzen haben ergeben, daß die Unterschiede zwischen den Altersstufen der Blätter einer Pflanze — sowohl bei normalen als auch bei ausgegeizten — viel größer waren als die Unterschiede zwischen normalen und rollenden Blättern gleichen Alters. Wenn Unterschiede vermerkt werden konnten, was zwischen normalen und schwach rollenden Blättern eindrucksvoller war als zwischen normalen und stark rollenden, dann war die Tendenz so gerichtet, als ob die rollenden Blätter etwas physiologisch jünger geblieben wären.

Die absoluten Werte der frühmorgens festgestellten „Reststärke", d. h. des Anteiles der Assimilate, der nachts nicht abgeleitet wurde und die Stauung bestens anzeigen konnte, waren gering. Sie schwankten zwischen 0,1 und 0,3 % der Frischsubstanz und konnten nur in den jüngsten Blättern bis 0,6 % gefunden werden. Der Unterschied in den Reststärkegehalten der normalen Blätter und der Rollblätter gleicher Insertionshöhen wurde als sehr gering befunden. Nur in schwach rollenden Freilandpflanzen war eine scheinbar regelmäßige Erhöhung der Reststärke von durchschnittlich 0,3 auf 0,4 % der Frischsubstanz bemerkbar, während sie bei den stark rollenden Freilandpflanzen aber nur von 0,3 auf 0,32 % erhöht war. Die Tatsache, daß im Gegensatz dazu normal wachsende junge Blätter 0,5 % Reststärke in der Frischsubstanz haben können, weist darauf hin, daß man die höhere Reststärke der Rollblätter eher als eine Folge der „Verjüngungstendenz" deuten kann und nicht von einer Assimilatstauung sprechen darf. Es müßte dann ja die 0,5 % Reststärke in den normalen Jungblättern auch als Assimilatstauung angesehen werden. Jedenfalls gibt es keinen Grund für die Annahme, daß ein Anhäufen von Assimilaten dem möglichen Wachstum eines Organteiles zuviel würde, daß ein unrichtiges Verhältnis Assimilation/Wachstum die Ursache des Blattrollens der Tomate sei.

Wie die Verbindung von Ursache und Wirkung zwischen Ausgeizen und Blattrollen zu erklären ist, kann noch nicht mit Sicherheit gesagt werden. Was wir beobachten konnten, zwingt uns die Arbeitshypothese auf, daß das

Entfernen der Blattachseltriebe (Ausgeizen) und des Terminaltriebes (Köpfen) sowie das Ausschneiden der Infloreszenzen zu einer Stauung der Wuchsstoffvorstufen in den Blättern führt, was eine erhöhte Bildung von Wuchsstoffen in jungen Blättern und in physiologisch jungen Teilen älterer Blätter zur Folge haben muß.

Es ist vielleicht nicht ganz richtig, die Wirkung einer solchen möglichen Wuchsstoffstauung als Verjüngungstendenz zu bezeichnen, wie wir es hier in der Abhandlung mehrfach getan haben. „Physiologisch jung" und „physiologisch alt" sind anscheinend bei der Pflanze nicht die einzigen Alternativen der Lebenspotenz. Das Starre, das Raschelnde und das Brüchige der Rollblätter ausgegeizter Tomatenpflanzen zeugt nicht von der Schmieg- und Biegsamkeit, vom Welken- und Sättigenkönnen und von der Reizbarkeit eines jungendlichen Pflanzengewebes. Es demonstriert vielmehr eine sklerotisch erstarrte Turgeszenz. Der Ablauf der Wachstumsperioden, das periodische Mehren und Mindern des Wachsenkönnens, ist bei ausgegeizten Tomatenpflanzen verlängert, die Intensität des Wachstums ist verstärkt, das Altern, die funktionelle Chlorose und letztlich die Nekrose, kommt erst verzögert. In allem herrscht das Prinzip des Lebensverlängerns, und dabei ist die Pflanze physiognomisch greisenhaft, unbeweglich und stumpf unempfindlich gegen äußere Reize, sie ist nicht reizbar oder reagiert nicht auf Reize. Ist dieser Zustand ein krankhafter? Stört das Entfernen der natürlichen Wachstumsspitzen notwendige hormonale Wechselbeziehungen oder notwendige Hormongefälle? Wir wissen hierüber noch wenig! Wir wissen auch noch wenig über den Stoffwechsel der ausgegeizten Tomatenpflanze in ihrem seltsamen Zustande, in dem diese Pflanze weder alt wird noch jung bleibt.

Zusammenfassung

Es wurde das Blattrollen ausgegeizter und geköpfter Tomatenpflanzen morphologisch untersucht. Ferner wurden zur Beantwortung der Frage, ob das Blattrollen die mechanische Folge einer Assimilatstauung, einer Stärkeschoppung, ist, quantitativ vergleichend die Trockensubstanz-, Asche- und Stärkegehalte normal gewachsener und rollender Blätter festgestellt.

Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, daß es keinen Grund gibt, der zur Annahme berechtigt, das Blattrollen sei wegen mangelhafter Wachstumsleistung auf Assimilatstauungen in den Blättern zurückzuführen. Das Entgeizen ist der Anlaß zu einem luxurierenden Wachstum der Blätter, die dabei das dreifache Gewicht erreichen können, ohne daß frühmorgens ein gesicherter Unterschied der an sich sehr geringen Reststärke festzustellen ist.

Die anomalen Formen des Blattwachstums müssen auf eine Disproportionierung eines allgemein übersteigerten aber bei verschiedenen Organteilen ungleich vermehrten Wachstums zurückgeführt werden. Es ist zu vermuten — was hier auch als Arbeitshypothese für weitere Untersuchungen beschrieben wird — daß das Ausgeizen der Tomatenpflanzen zu einer Stauung der Vorstufen von Wuchshormonen in den Blättern führt, die in den physiologisch

jüngeren Teilen dieses Organes anomal hohe und im Verhältnis zu physiologisch älteren Teilen disproportionierte Wuchsstoffkonzentrationen und -wirkungen zur Folge hat.

Summary

Investigations on leaf-rolled tomato plants

Morphological investigations of leaf roll were made on tomato plants in which the axillary shoots and tops had been removed. In connexion with the question whether leaf roll is caused by a stoppage of the products of assimilation — "running to starch" — estimations were also made of the contents of dry matter, ash and starch in normal and leaf-rolled plants.

From the results it can be concluded that there are no reasons for the assumption that leaf roll is caused by reduced growth capacity resulting from accumulation of the products of assimilation in the leaves. Removal of axillary shoots leads to excessive growth of the leaves, which can attain three times their normal weight, without any significant difference being detectable in the amount of starch remaining the following morning, which in any case is quite small.

The abnormal form of the leaf growth must be ascribed to disproportionate growth activity which is increased to a different extent in different organ parts. It can be assumed — and this is described here as a working hypothesis for further investigations — that removal of the axillary shoots causes a damming up of the precursors of growth hormones in the leaves, and that this leads to a disproportionately high concentration and activity of growth substances in the physiologically younger parts of these organs in relation to the physiologically older portions.

Literaturverzeichnis

Bremer, H., 1941: Das Blattrollen der Tomaten. Phytopath. Z. **13**, 445—480.

Güssow, H. T., 1921: Leaf curling in tomatoes. Phytopathology **11**, 380—383.

Paech, K., und M. V. Tracey, 1955: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Schoevers, T. A. C., 1919: Het krullen van tomatenbladeren. T. Plantenziekten **25**, Bijblad 11—12.

Steinberg, J., 1933: Ergebnisse der Gemüsesorten-Anbauversuche 1931/1932. Obst- u. Gemüsebau **79**, 164—176.

Steiner und Gubrie: Zit. nach Paech und Tracey 1955.

Stepanow, K. M., 1930: Einige Beobachtungen über das Rollen der Tomatenblätter im Distrikt von Astrachan. (Russ.-dtsch. Zusammenfassung.) Comment. Inst. Astrachanensis ad defensionem plantarum **2**, 41. (Nur Ref. zugänglich.)

Tracey, W. W., 1917: Tomato culture. New York. (Entnommen bei Schoevers 1919.)

Widmor, A., 1924 a: Kulturversuche mit der Tomatensorte „Lukullus" zwecks Aufklärung der Ursache des Blattrollens, 1922. Landw. Jb. Schweiz **38**, 686—688.

— —, 1924 b: Versuche über den Einfluß der Wasserregulierung auf das Blattrollen der Tomaten mit der Sorte „Lukullus", 1923. Landw. Jb. Schweiz **38**, 688—689.

Wieling, U., 1952: Morphologische und anatomische Untersuchungen über die phyllogenen Sprossungen bei *Solanum lycopersicum* L. Biol. Zbl. **71**, 415—437.

Aus dem Forschungsinstitut für Pflanzenschutz, Budapest

Zur Ätiologie der Aprikosenwelke

Von

St. Berend

Mit 2 Abbildungen

In früheren Arbeiten (1, 2) berichteten wir, daß die Aprikosenwelke im Innern des Stammes von einer Schwarzherzigkeit (black heart), d. h. einer braun-schwarzen Verfärbung begleitet ist (Abb. 1). Vielfach findet man diese Veränderungen auch in den Hauptzweigen der Krone. Aus solchen Bäumen gelang vielfach die Isolierung von *Verticillium*, oft war jedoch ein Mißerfolg zu verzeichnen.

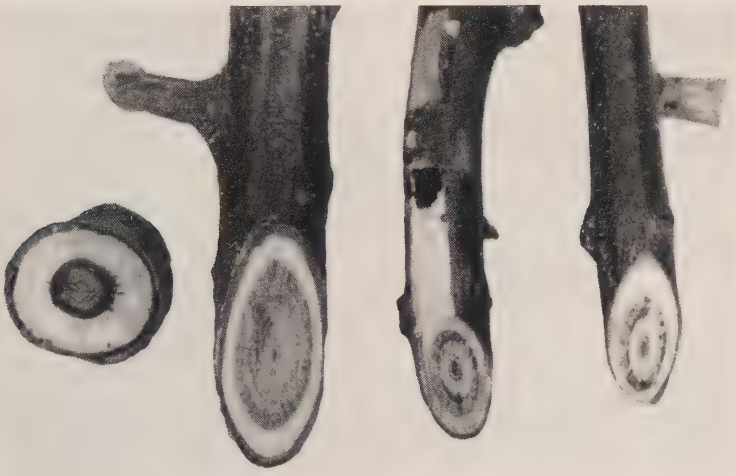


Abb. 1. Aprikosen-Verticilliose Foto: Csutiné

Der *Verticillium*-Befall des Aprikosenbaumes erscheint noch in einer anderen vom Verfasser beschriebenen Form (2). Wenn der Pilz durch eine Bodeninfektion nach Engerlingsfraß und ähnlichen Beschädigungen in das junge Aprikosenbäumchen eingedrungen ist, so kann er sich in der gesunden Pflanze jedoch nicht ausbreiten und kommt aus diesem Grunde nur lokali-

siert, herdförmig versteckt, im Innern des Baumes vor, ohne daß äußerlich Krankheitssymptome sichtbar werden. Wenn derartig latent infizierte Bäume durch Frost, Hitzschlag, tierische Beschädigungen, mechanische Verletzung u. ä. in ihrem physiologischen Zustand stark geschwächt werden, kann der Pilz sprunghaft die Oberhand gewinnen und eine halbseitige oder vollkommene, irreversible, plötzliche Welke hervorrufen.

Der Beginn der *Verticillium*-Welke der Aprikosen wird durch eine ständig zunehmende graugelbe Laubverfärbung sichtbar. Darüber hinaus tritt ein frühzeitiger Laubverlust oder mindestens partieller Blattfall ein.

Der Erreger gedeiht auf künstlichen Nährböden sehr gut; und bei den eigenen Arbeiten wurde meist Czapek-Nährboden verwendet.

Bei einer Temperatur von + 16 °C erscheint in der Reinkultur nach 80 bis 90 Stunden ein blendend weißer Schimmelrasen, in welchem nach weiteren 40 bis 50 Stunden besonders an den Rändern und am Grunde der Kolonien bzw. in der Kultur an dem Nährboden naheliegenden Teilen des Schimmelrasens die Mikrosklerotien in größerer Zahl gebildet werden.

Aus dem Verhalten der Isolationen wird geschlossen, daß es sich um eine Unterart von *Verticillium albo-atrum* handelt, die unter dem Namen *Verticillium dahliae* Kleb. bekannt ist (Abb. 2). Typisch für diese Art ist die weiß-schwarze Kolonie mit den Mikrosklerotien und die ellipsoidförmigen Konidien, welche auf den sich wirtelig verzweigenden Konidienträgern vielfach in falschen Köpfen gruppiert sind.

Bei genügender Feuchtigkeit und auf günstigen Nährböden bildet der Pilz kaum Myzelien, vielmehr vermehrt er sich durch Sprossung der Konidien. In den Kolonien einer solchen *Verticillium*-Kultur sind in geringer Zahl vom normalen, ellipsoidförmigen Konidientypus abweichende, fast gigantische Konidien zu beobachten, welche nicht regelmäßig ellipsoidförmig sind.

Die Konidienträger sind 300 bis 700 μ lang, hyalin und an der Basis von einer dunkleren, blaßbraunen Farbe. Der Durchmesser der Konidienträger beträgt 6,8 bis 7,5 μ. Am oberen, fast vollkommen durchsichtigen Teile der Konidienträger sind die Konidien in zwei bis drei Reihen an den Enden der wirteligen Verzweigungen zu

Abb. 2. Links: *Verticillium albo-atrum*
Rechts: *Verticillium dahliae*
Foto: BERENDT

sehen. Die Etagen sind 25 bis 50 μ voneinander entfernt, und die Konidien liegen beim *Verticillium* der Aprikose zumeist nur in zwei Reihen. Die die Wirtel haltenden Träger können — selten und unregelmäßig — sich wiederum in kleinere Wirtel verzweigen. Die Durchschnittsmessungen von je 100 Konidien und Mikrosklerotien des aus befallenen Bäumen isolierten Pilzes, *Verticillium dahliae*, ergaben die folgenden Daten:

1. Konidiengröße: $4{,}5 \times 2{,}2$ μ,
2. Größe der Mikrosklerotien: 120×38 μ.

Im wesentlichen und nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse ist die massenhafte Anwesenheit von Sklerotien kein spezifischer, sondern ein Variationscharakter. Als Eintrittsstelle des Erregers in die Aprikosenbäume ist zumeist die Wurzel und nur seltener der Wurzelhals zu betrachten. In eigenen Infektionsversuchen blieb die Einführung des Pilzes in die Pflanze an allen anderen Stellen ergebnislos.

Dieser Umstand ist insofern von Bedeutung, weil der Pilz, welcher einen hohen Grad von Pathogenität, jedoch nur eine geringe Vitalität besitzt, sich von der ursprünglichen Befallsstelle aus nicht weit verbreitet. Hierin kann eine Erklärung dafür gesehen werden, daß es bisher nicht gelungen war, den Pilz aus den verfärbten Teilen des Stammes und der Krone zu isolieren. Die Verfärbungen im Innern des Baumes werden durch eine toxische Fernwirkung des Erregers hervorgerufen.

Die Verbreitung des Pilzes erfolgt durch Bodenmyzelien sowie Konidien und wird durch infiziertes Baumschulmaterial und befallene Wurzelreste begünstigt. Die Überwinterung erfolgt in den befallenen Wurzeln im Boden.

Wollenweber (3) hat zweifelsohne recht gehabt, als er voraussagte, daß mit der Verbreitung der Verticilliosen in der gemäßigten Zone gerechnet werden muß. Unserer Meinung nach ist diese Annahme auch durch die immer häufiger auftretende Verticilliose der Aprikosen bestätigt.

Zusammenfassung

Es wird über Vorkommen und Schadbild einer Aprikosenwelke berichtet. Die Krankheit äußert sich anfangs in grau-gelb-grünen Blattverfärbungen und führt zu frühzeitigem Blattfall. Später setzt eine deutliche Verfärbung des Holzes in Stamm und Krone ein. Die Pflanzen welken und sterben ab. Als Erreger der Erkrankung konnte *Verticillium dahliae* Kleb. ermittelt werden. Der Pilz bleibt auf die Befallsstellen an der Wurzel lokalisiert und breitet sich nicht wesentlich in der Pflanze aus. Die Symptome am oberirdischen Teil der Aprikosenbäume werden durch eine toxische Fernwirkung des Erregers ausgelöst. Die Isolierung von *Verticillium dahliae* gelingt daher nur aus der eigentlichen Befallsstelle.

Summary

The etiology of apricot wilt

A report is given on the occurrence and symptoms of an apricot wilt. The disease is first expressed as a gray-yellowish-green coloration of the leaves and leads to early shedding of the leaves. Later on a clear discoloration of the wood in the trunk and crown sets in. The plants wilt and die off. The pathogen of the disease was identified as *Verticillium dahliae* Kleb. The fungus remains localized in the infected parts of the root and does not spread to any extent in the plant. The symptoms in the aerial parts of the apricot tree are produced by a remote action of toxic substances from the pathogen. Hence isolation of *Verticillium dahliae* is possible only from the actual seat of infection.

Literaturverzeichnis

1. Berend, I., 1952: Bericht über die das apoplektische Absterben der Aprikosenbäume bekämpfenden Forschungen in den Jahren 1948—1950. Növényv. Évkönyv 5, 251—258.
2. — —, 1956: Novsie dáta e Verticillioznom hynuti marhul. Biológia: Casopsis Slovenskoj Akademia Vied. Bratislava, Rocnik XI, 7, 403—410.
3. Wollenweber, H., 1922: Tracheomykosen und andere Welkekrankheiten, nebst Aussichten ihrer Abwehr. Angew. Bot. B. 4, 1—14.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Bakteriologie, Berlin-Dahlem

Über Beziehungen zwischen der durch *Pseudomonas tabaci* (Wolf u. Foster) Stevens hervorgerufenen „Wildfeuer"-Erkrankung des Tabaks, Luftdruckänderungen und Solaraktivität [1])

Von

H. Bortels

Mit 7 Abbildungen

Noch immer ist ein wichtiges epidemiologisches Problem der Bakteriosen von Pflanzen, Tieren und Menschen ungeklärt. Es betrifft die zwischen dem Krankheitsgeschehen einerseits sowie meteorologischen und solaren Ereignissen andererseits bestehenden merkwürdigen Beziehungen, deren Vorhandensein und Bedeutung zwar erkannt, deren wirksame Faktoren und kausale Verknüpfungen im einzelnen aber noch unbekannt sind. Auf Grund der Ergebnisse von Versuchen mit menschlichem Speichel und einem saprophytischen Bakterium als Modellsystem konnten 1942 (4) einige Erkenntnisse und Theorien zu diesem Problem mitgeteilt werden, die inzwischen sowohl durch einige Experimente mit Pflanzenbakteriosen als auch unter anderem durch Untersuchungen Donles (15) an Hand eines umfangreichen statistischen Materials über die Epidemiologie verschiedener Infektionskrankheiten des Menschen bestätigt bzw. gestützt werden konnten.

Das wesentlichste, allgemeiner gültige Ergebnis jener Speichel-Modellversuche ist, daß Wirt und Parasit, sofern beide aerob atmende Organismen sind, in etwa gleicher Weise von verschiedenen, noch unbekannten Agentien, die sich in vieler Hinsicht wie Strahlung verhalten, in ihrer Resistenz bzw. Virulenz beeinflußt werden. Beide Eigenschaften, Virulenz und Resistenz, werden meistens bei zyklonalem Wettergeschehen geschwächt oder ganz ausgelöscht und bei antizyklonalem verstärkt oder überhaupt erst entwickelt. Dadurch, daß der im allgemeinen höher organisierte Wirtsorganismus auf das jeweilige Wetteragens langsamer reagiert als etwa ein einzelliges pathogenes Bakterium, kommt es beim Übergang von zyklonalem zu antizyklonalem Wetter zu einer Begegnung von schon virulenten Bakterien mit noch

1) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

nicht resistenten Wirten und damit zu deren Erkrankung. Umgekehrt können aus demselben Grunde bei entgegengesetzter Wetterentwicklung von antizyklonal zu zyklonal die bereits geschwächten oder avirulent gewordenen Bakterien den noch resistenten Wirtsorganismen nicht gefährlich werden. Dementsprechend ist auch bei künstlicher Infektion höherer Pflanzen mit aeroben phatogenen Bakterien eine mehr oder weniger heftige Erkrankung im allgemeinen nur dann zu erwarten, wenn die Bakterien beim Übergang vom Tief- zum Hochdruckwetter auf Nähragar vorgezüchtet und in die Pflanzen geimpft werden. 1949 mitgeteilte Versuchsergebnisse (5) lieferten eine erste, noch nicht ausreichend gesicherte Bestätigung dieser Theorie. 1953 bis 1957 wurden abermals solche Versuche mit abgewandelter Methodik, und zwar mit *Pseudomonas tabaci* als Krankheitserreger und *Nicotiana tabacum* als Wirtspflanze durchgeführt und die gefundenen Beziehungen zwischen Erkrankungsgrad sowie Luftdruckänderung und Sonnenaktivität auf Überzufälligkeit statistisch geprüft.

Frühere Untersuchungen an *Chromobacterium violaceum* (9, 11) und anderen Mikroorganismen hatten ergeben, daß Farbstoffbildung und andere Stoffwechselleistungen auf bestimmten Nährböden von dem mit der Wetterentwicklung und Sonnenaktivität verbundenen variablen Agens während der Lösung der Nährstoffe im Wasser sehr abhängig sind.

Derartige Beeinflussungen der Bakterien über Veränderungen des Nährsubstrats waren auch bei den mit *Pseudomonas tabaci* durchgeführten Versuchen von vornherein zu erwarten. Deshalb wurde auf zwei verschiedenen Wegen vorgegangen: Von August bis Dezember 1953 wurden in Braunschweig einerseits aus einem Vorrat an Nährsubstrat zu je 5 ml in Reagenzröhrchen täglich vier davon erwärmt, der verflüssigte Agar schräg zum Erstarren gebracht, mit *Pseudomonas tabaci*, Stamm E, einer sieben Tage alten Kultur beimpft und die gewachsenen Bakterien 24 Stunden später in junge Tabakpflanzen der Sorte *Samsun* übertragen. Andererseits wurde täglich Nähragar derselben Zusammensetzung hergestellt, in vier Röhrchen zu je 5 ml abgefüllt, ebenso wie der Nährbodenvorrat 20 Minuten bei 125 °C sterilisiert, aufbewahrt und erst nach zwei Wochen jeweils auf einmal wieder geschmolzen, schräg zum Erstarren gebracht und mit einer sieben Tage alten Ausgangskultur beimpft. Mit den so erhaltenen Bakterienkulturen gleichen Alters, aber auf verschieden alten Nährböden wurden dann ebenfalls nach 24 Stunden Tabakblätter infiziert. Auf diese Weise sollte nicht nur die unmittelbare Beeinflussung der Bakterien durch das Wetteragens während ihrer Entwicklung auf dem Agarnährboden und in der Pflanze mit Hilfe des ersteren Verfahrens untersucht werden, sondern auch mit Hilfe des letzteren eine etwaige Virulenzänderung über eine Beeinflussung des Nährsubstrats während seiner Herstellung. Es hatte stets folgende Zusammensetzung: Leitungswasser 100,—, Vitambakt[1]) 1,—, Pepton 0,5, Agar 2,—, pH 7.

Von den je vier Parallelkulturen wurden zwei ungeschützt und zwei unter 0,07 mm dicker Aluminiumfolie im Holzthermostaten in einer Holzbaracke bei 27 °C bebrütet. Dann wurde je eine Impföse voll der 24 Stunden alten Bakterien an drei Punkten auf je drei Blattspreiten von je zwei gleichaltrigen Pflanzen aufgetragen, und zwar die Aluminiumkulturen links und die anderen rechts von der Mittelrippe eines Blattes, das an diesen Stellen sofort durchstochen wurde. Die Virulenz jeder Bakterienkultur wurde so in 18facher Wiederholung getestet. Nach dem Durchstechen der Blätter an den Infektionsstellen mit verschiedenen Glasnadeln für jede Bakterienkultur standen die Pflanzen 24 Stunden im wasserdampfgesättigten Raum und dann sechs weitere Tage außerhalb desselben im Gewächshaus, wonach die Durchmesser der um die Einstiche entstandenen chlorotischen Höfe gemessen und als Größe für den Infektionserfolg oder für die Virulenz der eingeimpften Bakterien verwertet wurden. Dabei muß bei dem ersten der beiden

[1]) Vitam-Fabrik biologischer Präparate, Hameln.

genannten Verfahren die Frage, wie weit an der wechselnden Schwere der Erkrankungen die veränderliche Virulenz der Bakterien und wie weit die veränderliche Resistenz der Pflanzen beteiligt war, zunächst unbeantwortet bleiben.

Für die statistische Untersuchung der Beziehungen zwischen Maxima und Minima der Krankheitssymptome einerseits und Luftdruckänderungen andererseits nach dem häufig angewandten Synchronisationsverfahren mit den Tagen der Impfung oder der Nährbodenherstellung als Stichtagen kamen nur diejenigen mittleren Werte des Infektionserfolges in Betracht, die sich auch in ihren Einzelwerten deutlich vom statistischen Hintergrund abhoben. Die Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert waren aber im allgemeinen so gering, daß sie vernachlässigt werden konnten, während sich die Unterschiede von Tag zu Tag zwischen 0 und etwa 20 mm bewegten. Die in die Kollektive aufgenommenen mittleren Maxima und Minima lagen mindestens 2 mm über bzw. unter ihren Nachbarwerten. Ob die gefundenen Beziehungen als überzufällig angesehen werden konnten oder nicht, wurde wieder wie bei ähnlichen früheren Arbeiten nach zwei Verfahren untersucht, nach dem sogenannten t-Verfahren (20) und durch Vergleich der prozentualen Häufigkeiten steigenden oder fallenden Luftdrucks in den Kollektivreihen der Lufdruckänderungen um die Extremwerte der Krankheitssymptome (17).

Die Synchronisationsmethode beruht darauf, daß alle in einem Kollektiv zusammengefaßten Tage einer Versuchsreihe mit z. B. Maxima der Krankheitssymptome (= Stichtage = y-Achse) und dazu die jeweiligen Luftdruckänderungen während mehrerer Tage davor und danach (x-Achse) untereinandergeschrieben, also gewissermaßen synchronisiert werden. Dann wird in den senkrechten Reihen für die Stichtage (y-Achse) und die Tage davor und danach das arithmetische Mittel der interdiurnen Luftdruckänderungen gebildet (Kurve). Die Kurve gibt also an, ob der Luftdruck im Mittel aller Stichtage während derselben oder vor- und nachher steigt (+) oder fällt (—). Ob ein solcher Mittelwert z. B. steigenden Luftdrucks (Maximum der Kurve) außerhalb des Zufallbereichs liegt und damit statistisch gesichert ist, läßt sich mit Hilfe des t-Verfahrens nach der Gleichung

$$t = \frac{M_1 - M_2 \cdot \sqrt{\frac{n^2}{2n}}}{\sqrt{\frac{C_1 + C_2}{2n - 2}}}$$

feststellen. M_1 und M_2 sind die beiden miteinander verglichenen Mittelwerte für das zu untersuchende Kurven-Maximum oder -Minimum und das voraufgehende oder folgende Minimum bzw. Maximum. n ist die Anzahl der im betreffenden Kollektiv aufgenommenen Stichtage mit z. B. Maxima der Krankheitssymptome. c_1 und c_2 sind die Summen der Quadrate aller Einzelabweichungen vom zugehörigen Mittelwert ($\Sigma[M-a_1]^2$). t wird also um so größer, je größer die Mittelwerte und die Anzahl der untersuchten Fälle und je kleiner die Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert sind. Je kleiner n ist, um so größer muß t ausfallen, wenn die untersuchte Korrelation als gesichert gelten soll. Aus entsprechenden Kurven der sogenannten t-Verteilung kann für jeden errechneten t-Wert der zugehörige prozentuale Sicherungsgrad abgelesen werden. Bei 99 75 % liegt die 3-σ-Grenze und bei 95,5 % die 2-σ-Grenze, die bei biologischen Versuchen mindestens überschritten werden muß. Um sicher zu gehen, daß ein hoher Mittelwert für z. B. steigenden Luftdruck nicht auf nur einigen wenigen Tagen mit sehr stark steigendem Druck beruht, wurde die prozentuale Häufigkeit einer bestimmten Luftdruckänderung in den drei Kollektivreihen für die Kurvenextremwerte ermittelt. Die Differenz der Häufigkeiten zwischen den beiden miteinander verglichenen Reihen muß dann eine größtmögliche Zufallsdifferenz, die der Kurvenschar auf Bildtafel III in Kollers Buch entnommen wurde, erreichen oder übersteigen, wenn die Korrelation signifikant ist.

Mit den auf vorrätig gehaltenem Agar vom gleichen Herstellungsdatum mit und ohne Aluminiumabschirmung vorgezüchteten Bakterien wurden Maxima der Krankheitssymptome erreicht, wenn im Mittel der Luftdruck

während oder nach der Infektion stieg, und Minima, wenn er während dieser Zeit fiel (Abb. 1). Damit wäre die eingangs erwähnte meteoro-epidemiologische Theorie in einem wesentlichen Punkt abermals bestätigt. Aluminiumabschirmung der Bakterien hat ihren Virulenzgrad im Mittel aller Kulturen dieser Reihe nur geringfügig zu heben vermocht, nämlich um 12 %. Eine Wirkung des Aluminiums auf die Zeit der Bakterienreaktion im Vergleich mit der zugehörigen Luftdruckänderung war nur bei den Minima festzustellen. Die Luftdruckdifferenzkurve für Aluminiumkulturen ist gegenüber derjenigen für nicht abgeschirmte Bakterien um einen Tag nach links verschoben. Das ist eine merkwürdige Erscheinung, die auch an anderen Objekten (10) schon festgestellt werden konnte. Immer, wenn überhaupt eine Phasenverschiebung zwischen den abgeschirmten und den nicht abgeschirmten Objekten in den Luftdruckdifferenzkurven auftrat, war sie so, daß bei Aluminiumabschirmung das Versuchsobjekt auf die zugehörige charakteristische Luftdruckänderung später reagierte als ohne Abschirmung. Wie bei den meisten Ergebnissen früherer ähnlicher Versuche sind auch hier wieder nur die Minima und nicht die Maxima, d. h. die Kulturen unter dem Einfluß fallenden Luftdrucks, die auf diese Weise bei Aluminiumabschirmung mit Verzögerung auf das Wetterereignis reagierten, also mit Phasenverschiebung der Luftdruckdifferenzkurve nach links. Offenbar liegt hier eine Gesetzmäßigkeit vor, die wahrscheinlich so zu erklären ist, daß die hypothetische Wetterstrahlung mit fortschreitend zyklonaler Entwicklung härter wird und deshalb aus dem Metall biologisch wirksame weichere Schauerstrahlung austritt, die einen Tag früher außerhalb des Metalls vorhanden war und von diesem absorbiert wurde (6).

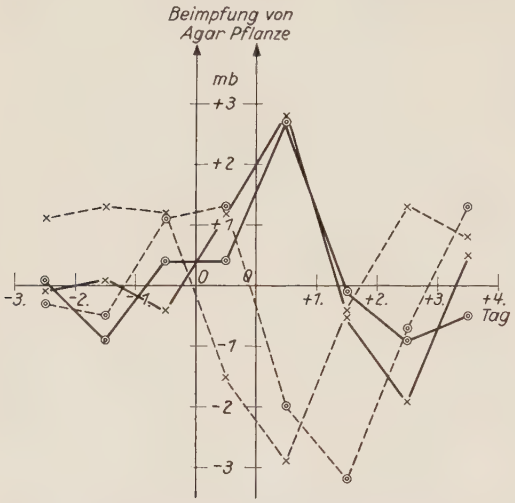


Abb. 1. Mittlere interdiurne Luftdruckänderungen um die Maxima (——) und Minima (– – – –) der mit nicht abgeschirmten (⊙) und abgeschirmten (×) Bakterien hervorgerufenen Krankheitssymptome. Braunschweig 1953

Allgemein ist das Ergebnis der statistischen Untersuchung auf Überzufälligkeit im Verlauf der Luftdruckänderungskurven zufriedenstellend (Tab. 1 und 2). Die 2-σ-Grenze wird in jedem Falle, meistens sogar die 3-σ-Grenze überschritten. Das ist eine den allgemeingültigen Forderungen durchaus genügende Sicherung, wenn auch die größtmöglichen Zufallsdifferenzen zwischen den Häufigkeiten steigenden oder fallenden Luftdrucks in den ziemlich kurzen Kollektivreihen für die Kurvenextreme nicht immer ganz erreicht oder überschritten werden.

Die in Abbildung 1 dargestellten Beziehungen zwischen Wetteränderung und Schwere der Erkrankung während und nach der Bakterienentwicklung lassen, ganz abgesehen vom unbekannten Resistenzgrad der Tabakpflanzen, auch nicht erkennen, ob die Bakterien nur bei der Vorzüchtung auf Nähragar oder nur in der Pflanze oder auf beiden Substraten durch das Wetteragens in ihrer Virulenz beeinflußt werden. Das ist im folgenden noch zu klären. Zuvor aber soll untersucht werden, ob und in welcher Weise das Wetteragens auch über eine Veränderung des Agarnährbodens während seiner Zubereitung auf die Bakterienvirulenz Einfluß nehmen kann. Denn die verhältnismäßig große Überzufälligkeit der in Abbildung 1 dargestellten Beziehungen konnte vermutlich nicht zuletzt deshalb erreicht werden, weil die auf Grund früherer Versuchsergebnisse anzunehmende Wetterwirkung auf das Agar-Nährsubstrat während seiner Auflösung in Wasser infolge der Herstellung eines ausreichenden Vorrats konstant gehalten wurde und deshalb die unmittelbaren Wirkungen auf die Bakterien nicht überdecken konnte.

Tabelle 1

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Maxima der Krankheitssymptome

Agarvorrat (Abb. 1)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Beimpfung von Pflanze	+1.	+2.	+3.	+4.	
$\Sigma \Delta$ P (n = 25)	3	—17	7	7	50	—3	—17	—9		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mm Hg	0,1	— 0,7	0,3	0,3	2,0	—0,1	— 0,7	—0,4		
$\Sigma (M—a_1)^2$		307,7			172,0		323,7			
t			3,0			2,9				
σ			2 bis 3			2 bis 3				
M in mb	0,1	— 0,9	0,4	0,4	2,7	—0,1	— 0,9	—0,5		
% Tage mit steigendem Luftdruck		44			80		36			
Differenz			36			44				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			43			44				
$\Sigma \Delta$ P (n = 25)	—3	3	—8	23	53	—11	—36	9		Bakterien abgeschirmt
M in mm Hg	—0,1	0,1	—0,3	0,9	2,1	— 0,4	— 1,4	0,4		
$\Sigma (M—a_1)^2$			346,5		144,4		379,0			
t				2,7		3,8				
σ				2 bis 3		> 3				
M in mb	—0,1	0,1	—0,4	1,2	2,8	— 0,5	— 1,9	0,5		
% Tage mit steigendem Luftdruck			36		80		24			
Differenz				44		56				
Größtmögliche Zufallsdifferenz				44		44				

Tabelle 2

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Minima der Krankheitssymptome

Agarvorrat (Abb. 1)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Beimpfung von Pflanze	+1.	+2.	+3.	+4.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 24)	—5	—10	18	23	—37	—57	13	25		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mm Hg	—0,2	— 0,4	0,8	1,0	— 1,5	— 2,4	0,5	1,0		
$\Sigma (M-a_1)^2$				297,0		154,4		361,0		
t					3,8		3,6			
σ					>3		>3			
M in mb	—0,3	— 0,5	1,1	1,3	— 2,0	— 3,2	0,7	1,3		
% Tage mit fallendem Luftdruck				33		88		38		
Differenz					55		50			
Größtmögliche Zufallsdifferenz					44		45			
$\Sigma\Delta$ P (n = 23)	19	23	21	—25	—51	8	23	13		Bakterien abgeschirmt
M in mm Hg	0,8	1,0	0,9	— 1,1	— 2,2	0,3	1,0	0,6		
$\Sigma (M-a_1)^2$		280,0			117,0		218,0			
t			3,6			3,9				
σ			>3			>3				
M in mb	1,1	1,3	1,2	— 1,5	— 2,9	0,4	1,3	0,8		
% Tage mit fallendem Luftdruck		39			78		35			
Differenz			39			43				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			45			45				

In den nunmehr zu beschreibenden, mit den obigen gleichzeitig durchgeführten Versuchen wurden deshalb als Stichtage nicht die Daten der Agarbeimpfung und Pflanzeninfektion, sondern diejenigen eingesetzt, an denen die Nährböden mit maximal bzw. minimal virulentem Bewuchs hergestellt worden waren. Aus Abbildung 2 geht hervor, daß die Bakterien im Mittel dann am virulentesten waren, wenn sie auf einem bei fallendem Luftdruck angesetzten Nährboden gezüchtet wurden, und am wenigsten virulent auf einem bei steigendem Luftdruck hergestellten Nährmedium. Dabei war es im wesentlichen wieder gleichgültig, ob die Bakterien auf dem Agar mit oder ohne Aluminiumschutz wuchsen. Im Mittel aller Versuche liegen die Virulenzwerte für die Aluminiumkulturen nur um 23 % höher entsprechend der ebenfalls geringen Differenz bei den Versuchsreihen zu Abbildung 1. In jener Zeit von 1953 bis 1954 in Nähe des Sonnenflecken-Minimums waren auch bei anderen Versuchsobjekten keine deutlichen Absorptionswirkungen mit Metallen zu erreichen (10) im Gegensatz etwa zu 1950 bis 1952 (7).

Besonders merkwürdig ist es allerdings, daß auch diesmal durch Abschirmung der Bakterien mit Aluminium eine Linksverschiebung der Luftdruckdifferenzkurve für Virulenz-Maxima, nicht derjenigen für Virulenzminima, hervorgerufen wurde, also wieder nur der Kurve mit überzufällig fallendem Luftdruck, nicht derjenigen mit steigendem Druck. In der Tat fällt auch bei Betrachtung der Einzeldaten auf, daß auf einigen Nährböden gleichen Ansatztages die abgeschirmten Bakterien ganz avirulent, die nichtabgeschirmten dagegen stark virulent waren und umgekehrt. Eine Aluminiumwirkung auf die Bakterien in Abhängigkeit vom Nährsubstrat war also manchmal sehr deutlich zu erkennen. Sie ging nur im Mittel wegen mehrfacher Umkehrung des Vorzeichens wieder nahezu verloren und äußerte sich fast nur in der Linksverschiebung des fallenden Luftdrucks für Infektions-Maxima der Aluminiumkulturen. Diese Verschiebung besagt, daß die unter einem Aluminiumschirm angewachsenen Bakterien zur Entwicklung ihrer stärksten Virulenz einen Nährboden benötigten, der im Mittel etwas später (i n statt v o r dem Tief) hergestellt wurde als derjenige für die virulentesten unbeschirmt gewachsenen Bakterien. Zur Zeit ist es noch nicht möglich, diese Beziehungen sinnvoll zu deuten.

Es bedarf ferner eines besonderen Hinweises auf die Feststellung, daß hier bei der mittelbaren Wirkung des Wetteragens auf den Infektionserfolg über eine Beeinflussung des Nährsubstrats bei seiner Auflösung im Wasser die Maxima der Infektionswerte durch fallenden, die Minima durch steigenden Luftdruck gekennzeichnet sind und nicht umgekehrt wie bei der oben beschriebenen unmittelbaren Beeinflussung der Bakterien. Dieselben Beziehungen gelten, wie schon kurz erwähnt, für die Farbstoffbildung einiger Bakterienarten (9, 11), die auf verstärkter Eiweißatmung beruht. Wahrscheinlich ist auch die Virulenz von *Pseudomonas tabaci* irgendwie mit verstärkter Eiweißatmung verbunden. Wie aus anderen, zum Teil gleichzeitig durchgeführten Versuchen (10) zu ersehen ist, vermehrt sich *Pseudomonas tabaci* durchschnittlich stärker auf einem bei steigendem als auf einem bei fallendem Luftdruck angesetzten Nährboden. Vermehrungsgeschwindigkeit und Virulenzgrad sind hier offenbar zwei sich gegenseitig mehr oder weniger ausschließenden biochemischen Grundreaktionen zugeordnet. Es könnte deshalb sein, daß die Virulenz mit der Autolyse verknüpft ist, die ja auf der Veratmung von Zelleiweiß beruht und z. B. bei *Chromobacterium violaceum* zur Farbstoffbildung führt. Dagegen ist die Zellvermehrung in erster Linie von der Intensität der Kohlenhydratatmung abhängig und wird durch Autolyse gehemmt oder sogar rückläufig. Dementsprechend konnte wiederholt festgestellt werden, daß die in 24 Stunden dicht bewachsenen Kulturen von *Pseudomonas tabaci* schwächer virulent waren als die nur dünn bewachsenen. Im übrigen hat Braun (12) schon festgestellt, daß das Toxin des „Wildfeuer"-Erregers eine Aminosäure, also ein Eiweißspaltprodukt ist. Bei anderen pflanzenpathogenen Bakterien können die Verhältnisse natürlich wieder ganz anders liegen.

Die in Abbildung 2 dargestellte Beeinflussung der biologischen Wirkung des Nährsubstrats durch das Wetteragens ist ebenfalls ausreichend gesichert

(Tab. 3 und 4). Wenn auch für drei der vier in den Kurven festgelegten Beziehungen nur die 2-σ-Grenze und die größtmögliche Zufallsdifferenz nur einmal überschritten wird, so ist das für biologische und erst recht für meteorobiologische Korrelationen wegen der großen Komplexe von Wirkfaktoren als ausreichend anzusehen. Dabei muß außerdem berücksichtigt werden, daß die Versuchsreihen nur über ein halbes Jahr ausgedehnt werden konnten. In derartig kleinen Kollektiven können an sich bestehende Korrelationen durch vereinzelte, ohne weiteres verständliche Schwankungen im zeitlichen Abstand zwischen biologischem oder physikalisch-chemischem und meteorologischem Ereignis um nur höchstens einen Tag infolge Interferenz ausgelöscht werden. So ist z. B. der Luftdruckfall in der Kurve für Nährböden mit Virulenz-Maxima nicht abgeschirmter Bakterien mit 2 bis 3 σ gesichert. Die damit angedeutete Dehnung der Korrelation beruht auf nur 4 Stichtagen im Gesamtkollektiv von 26 Tagen. An diesen 4 Tagen ist der Druckfall bis zu 24 Stunden früher eingetreten als an den übrigen Tagen. Werden also in der Berechnung die vier jeweils um einen früher liegenden Tage eingesetzt,

Tabelle 3

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Maxima der Krankheitssymptome

(Abb. 2)

Tag	—4.	—3.	—2.	—1. Nährboden-ansatz	+1.	+2.	+3.	+4.	
$\Sigma \Delta$ P (n = 26)	9	2	3	—41	—44	25	7	4	Bakterien nicht abgeschirmt
M in mm Hg	0,3	0,1	0,1	— 1,6	— 1,7	1,0	0,3	0,2	
Σ (M—a_1)^2	382,2				201,8	299,0			
t			2,1		3,1				
σ			2		2 bis 3				
M in mb	0,4	0,1	0,1	— 2,1	— 2,3	1,3	0,4	0,3	
% Tage mit fallendem Luftdruck	46				77	46			
Differenz			31		31				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			44		44				
$\Sigma \Delta$ P (n = 25)	— 4	10	2	—51	8	20	8	16	Bakterien abgeschirmt
M in mm Hg	— 0,2	0,4	0,1	— 2,0	0,3	0,8	0,3	0,6	
Σ (M—a_1)^2		323,0		177,0		323,0			
t			2,6		3,1				
σ			2 bis 3		2 bis 3				
M in mb	— 0,3	0,5	0,1	2,7	0,4	1,1	0,4	0,8	
% Tage mit fallendem Luftdruck		40		80		36			
Differenz			40		44				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			44		44				

Tabelle 4

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Minima der Krankheitssymptome

(Abb. 2)

Tag	—4.	—3.	—2.	—1.	Nährboden-ansatz	+1.	+2.	+3.	+4.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 24)	— 8	—14	—28	14	52	— 4	—19	7		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mm Hg	— 0,3	— 0,6	— 1,2	0,6	2,2	— 0,2	— 0,8	0,3		
Σ (M—a_1)²			428,4		170,9		291,0			
t				3,3		3,3				
σ				fast 3		fast 3				
M in mb	— 0,4	— 0,8	— 1,6	0,8	2,9	— 0,3	— 1,1	0,4		
% Tage mit steigendem Luftdruck			33		75		33			
Differenz				42		42				
Größtmögliche Zufallsdifferenz				45		45				
$\Sigma\Delta$ P (n = 22)	— 5	11	—23	12	47	7	— 18	8		Bakterien abgeschirmt
M in mm Hg	— 0,2	0,5	— 1,1	0,6	2,1	0,3	— 0,8	0,4		
Σ (M—a_1)²			288,8		114,4		204,4			
t				3,4		3,5				
σ				3		>3				
M in mb	— 0,3	0,7	— 1,5	0,8	2,8	0,4	— 1,1	0,5		
% Tage mit steigendem Luftdruck			32		82		36			
Differenz				50		46				
Größtmögliche Zufallsdifferenz				47		47				

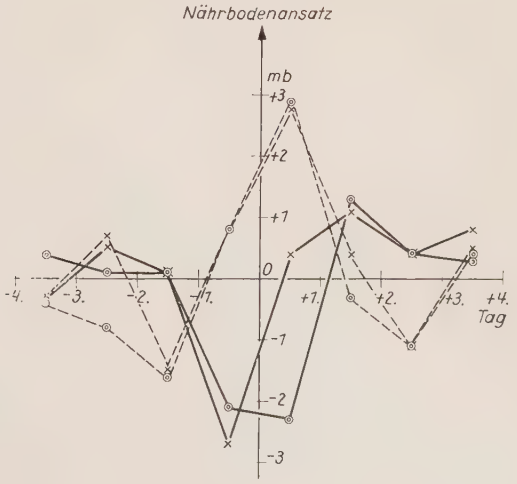


Abb. 2. Mittlere interdiurne Luftdruckänderungen um die Maxima (———) und Minima (– – – –) der Virulenz nicht abgeschirmter (⊙) und abgeschirmter (×) Bakterien. Tage der Nährbodenbereitung als Stichtage. Braunschweig 1953

dann ergibt sich bereits eine Sicherung von weit über 3 σ. Es ist deshalb nicht immer angängig, mit den statistischen Kontrollen zu starr zu verfahren und ermittelte Beziehungen als nicht bestehend abzulehnen oder sie einer weiteren Untersuchung nicht für wert zu halten, nur weil die statistische Sicherung nicht ganz genügende Werte ergeben hat. Der damit angerichtete Schaden wäre mindestens ebenso groß, wie wenn überhaupt keine Untersuchung über die Signifikanz von Korrelationen vorgenommen würde. Die wichtigsten Ergebnisse der bisher beschriebenen Versuche werden im übrigen durch die noch folgenden bestätigt.

Von Juli 1955 bis Januar 1956 wurde insofern etwas anders verfahren, als die Bakterien in zwei auf dem Versuchsfeld des Instituts in Berlin-Dahlem frei stehenden Holzthermostaten mit und ohne Aluminiumschirm vorgezüchtet wurden. Ausgehend von dem Gedanken, daß sich in einer Impfreihe, z. B. in den an jedem Montag von der Kultur des vorausgegangenen Montags abgeimpften Kulturen möglicherweise allmählich eine Population eigener Prägung bildet, die sich z. B. von den Kulturen der Dienstagsreihe irgendwie unterscheidet, wurden die Impfdaten als Stichtage verwertet, an denen die Kulturen einer Reihe überdurchschnittliche Zu- oder Abnahmen des Infektionserfolges gegenüber den Vorkulturen ergaben.

Das Ergebnis aus allen sechs Impfreihen (Montag bis Samstag) ist in Abbildung 3 zusammengefaßt. Wieder sind die Zunahmen der Krankheitssymptome wie die Maxima von 1953 steigendem Luftdruck und die Abnahmen wie die Minima fallendem Luftdruck zugeordnet. Eine Wirkung der Aluminiumabschirmung ist diesmal aber nicht zu erkennen. Auch besteht kein Unterschied zwischen den Mittelwerten aller abgeschirmten und aller nicht abgeschirmten Kulturen. Dafür aber sind die Maxima und Minima aller Kurven gegenüber 1953 um ein bis zwei Tage nach links gerückt. Was also 1953 künstlich durch Überdecken der Bakterienkulturen mit Aluminiumfolie erreicht worden war, ist 1955/56 schon natürlich gegeben. Die wirksame „Wetterstrahlung", vor allem vor Depres-

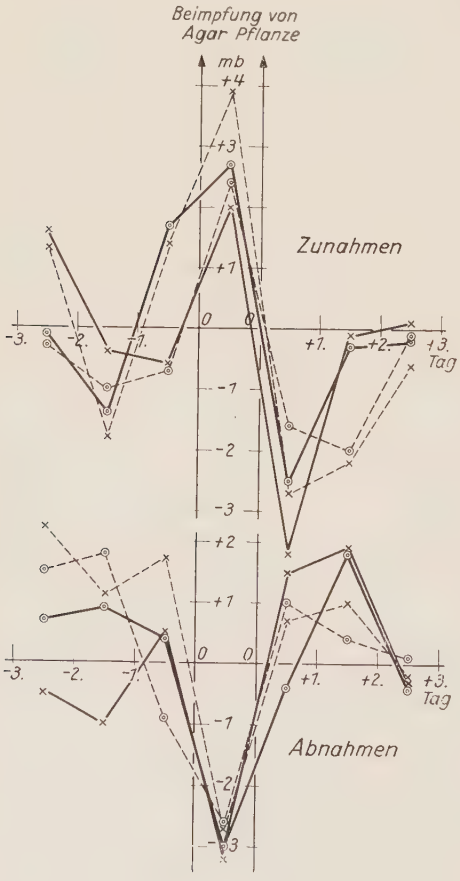


Abb. 3. Mittlere interdiurne Luftdruckänderungen um die Zunahmen und Abnahmen der mit nicht abgeschirmten (———) und abgeschirmten (– – – –) Bakterien aus Thermostat I (⊙) und II (×) hervorgerufenen Krankheitssymptome.

Berlin-Dahlem 1955/56

sionen, ist also 1953 früher am Erdboden angekommen als 1955/56. Vielleicht war 1955/56 von der Atmosphäre die Absorberfunktion übernommen worden, die 1953 vom Aluminium ausgeübt worden war.

Im Zusammenhang hiermit steht möglicherweise auch die auffallende Tatsache, daß die charakteristischen Druckänderungen 1955/56 noch stärker pendelten als 1953, d. h. häufiger 24 Stunden früher oder später eintrafen. Deshalb sind die Korrelationen nicht immer gut gesichert (Tab. 5, 6, 7 und 8). In einem Falle ist nicht einmal die 2-σ-Grenze erreicht worden. Es ist natürlich auch denkbar, daß das Wetteragens manchmal am Tage der Agarimpfung und manchmal am Tage der Pflanzeninfektion wirksamer war, und daß dann die Amplituden der zu diesen beiden aufeinander folgenden Impftagen gehörenden charakteristischen Luftdruckänderungen bei der Mittelbildung wieder eingeebnet wurden. Die Möglichkeit, daß beide Stichtage, die der Agarimpfung und der Pflanzeninfektion, etwa gleichwertig sind, soll an Hand von 1956 entsprechend angelegten Versuchen noch näher geprüft werden.

Störende Einwirkungen fallen immer dann besonders schwer ins Gewicht, wenn die Kollektive nur klein sind. Sie ließen sich im vorliegenden Falle dadurch vergrößern, daß die jeweils vier Kurven für Virulenzzunahme und -abnahme in je einer Kurve zusammengefaßt wurden (Abb. 4). Bei der dadurch von 20 bis 30 auf etwa 50 angewachsenen Zahl von Stichtagen machen

Tabelle 5

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Zunahmen der Krankheitssymptome

Bakterien in Thermostat I (Abb. 3)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Pflanze	+1.	+2.	+3.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 37)	—5	—50	63	99	—91	—10	—9		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mb	—0,1	— 1,4	1,7	2,7	— 2,5	— 0,3	—0,2		
Σ $(M—a_1)^2$		1866,0		754,5	1629,3				
t			2,9		3,9				
σ			2 bis 3		>3				
% Tage mit steigendem Luftdruck		41		73	32				
Differenz			32		41				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			36		36				
$\Sigma\Delta$ P (n = 22)	—7	—22	—15	52	—35	—43	—3		Bakterien abgeschirmt
M in mb	—0,3	— 1,0	— 0,7	2,4	— 1,6	— 2,0	—0,1		
Σ $(M—a_1)^2$		424,0		400,0		1019,0			
t			2,5		2,5				
σ			>2		>2				
% Tage mit steigendem Luftdruck		41		73		36			
Differenz			32		37				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			46		46				

Tabelle 6

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Zunahmen der Krankheitssymptome

Bakterien in Thermostat II (Abb. 3)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Pflanze	+1.	+2.	+3.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 24)	31	— 8	—11	38	—70	2	1		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mb	1,6	— 0,4	— 0,6	2,0	— 3,7	— 0,1	0,1		
$\Sigma(M—a_1)^2$			905,4	962,0	654,7				
t				1,9	2,7				
σ				< 2	2 bis 3				
% Tage mit steigendem Luftdruck			53	63	21				
Differenz				10	42				
Größtmögliche Zufallsdifferenz				17	49				
$\Sigma\Delta$ P (n = 20)	26	—37	28	72	—54	—45	—12		Bakterien abgeschirmt
M in mb	1,3	— 1,8	1,4	3,9	— 2,7	— 2,2	— 0,6		
$\Sigma(M—a_1)^2$		530,4		744,8	786,4				
t			3,1		3,4				
σ			2 bis 3		3				
% Tage mit steigendem Luftdruck		30		75	40				
Differenz			45		35				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			48		48				

sich die genannten Störungen statistisch kaum noch bemerkbar. Die Beziehungen zwischen Infektionserfolg und Luftdruckänderung treten nun klar hervor, und die 3-σ-Grenze wird in beiden Fällen überschritten (Tab. 9).

Eine auffällige Erscheinung ist auch der Virulenzschwund, der in allen Impfreihen im Herbst 1955 auftrat (Abb. 5). Jede dieser Reihen zeigt ihr eigenes, charakteristisches Bild. Ständig avirulent geblieben sind die Kulturen vom Dienstag aus Thermostat I (I) unter Aluminium (Al), Mittwoch II Al, Freitag II und I Al und Samstag alle vier. Die samstags übergeimpften Reihen wurden also

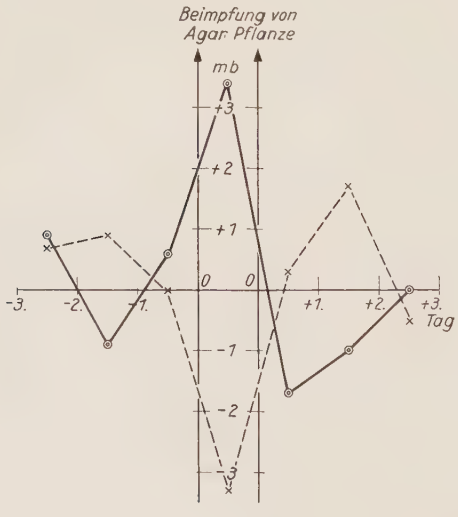


Abb. 4. Mittlere interdiurne Luftdruckänderungen um sämtliche Zunahmen (⊙—⊙) und Abnahmen (×- - -×) der mit allen vier verschiedenen Bakterienkulturen hervorgerufenen Krankheitssymptome.

Berlin-Dahlem 1955/56

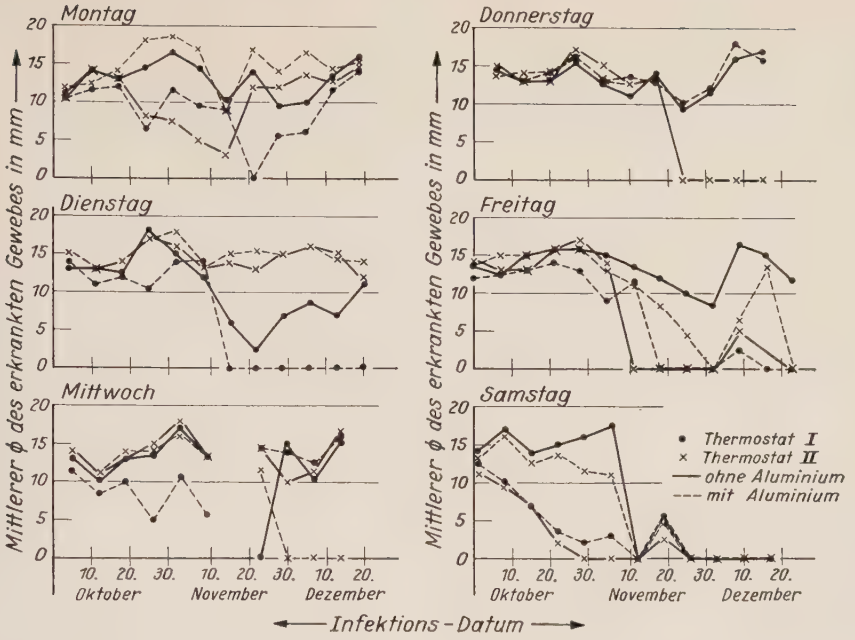


Abb. 5. Virulenzschwund bei *Pseudomonas tabaci* in den Impfreihen der sechs Wochentage. Berlin-Dahlem 1955

Tabelle 7

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Abnahmen der Krankheitssymptome

Bakterien in Thermostat I (Abb. 3)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Pflanze	+1.	+2.	+3.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 30)	22	26	13	—91	—11	54	—11		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mb	0,7	0,9	0,4	— 3,0	— 0,4	1,8	— 0,4		
Σ $(M—a_1)^2$		783,2		683,0		709,9			
t			3,0		3,8				
σ			2 bis 3		>3				
% Tage mit fallendem Luftdruck		40		80		30			
Differenz			40		50				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			40		40				
$\Sigma\Delta$ P (n = 28)	42	48	—24	—72	27	10	2		Bakterien abgeschirmt
M in mb	1,5	1,8	— 0,9	— 2,6	1,0	0,4	0,1		
Σ $(M—a_1)^2$		1122,8		868,0	649,0				
t			2,7	2,5					
σ			2 bis 3	2 bis 3					
% Tage mit fallendem Luftdruck		39		79	50				
Differenz			40	29					
Größtmögliche Zufallsdifferenz			41	40					

Tabelle 8

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Abnahmen der Krankheitssymptome in Thermostat II

(Abb. 3)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Pflanze	+1.	+2.	+3.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 30)	—16	—30	16	—95	44	57	—10		Bakterien nicht abgeschirmt
M in mb	— 0,5	— 1,0	0,5	— 3,2	1,5	1,9	— 0,3		
Σ $(M—a_1)^2$			1385,5	768,4		752,4			
t			2,4		3,9				
σ			>2		>3				
% Tage mit fallendem Luftdruck			37	80		27			
Differenz			43		53				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			40		40				
$\Sigma\Delta$ P (n = 24)	52	27	41	—64	16	24	— 4		Bakterien abgeschirmt
M in mb	2,2	1,1	1,7	— 2,7	0,7	1,0	— 0,2		
Σ $(M—a_1)^2$			879,2	299,6		440,0			
t			3,0		3,2				
σ			2 bis 3		fast 3				
% Tage mit fallendem Luftdruck			37	79		33			
Differenz			42		46				
Größtmögliche Zufallsdifferenz			45		45				

von dem virulenzschwächenden Agens am stärksten betroffen, während die Kulturen Donnerstag II und II Al immerhin am 22. 12. bzw. 19. 1. wieder virulent geworden sind. Es ist sicher kein Zufall, daß die in ihrer Virulenz am widerstandsfähigsten Montagskulturen in jener Versuchszeit meistens bei steigendem Luftdruck und die am stärksten geschwächten Samstagskulturen meistens bei fallendem Luftdruck auf Nähragar überimpft wurden. Da einige Kulturen nach der Avirulenz abermals virulent wurden, andere nicht, auch später nicht, müssen diese Schwankungen des Infektionserfolges tatsächlich auf Änderungen der Bakterienvirulenz und nicht der Pflanzenresistenz zurückgeführt werden. Ähnliche Schwächungen gewisser Stoffwechselleistungen anderer Mikroorganismen im Herbst und Winter konnten verschiedentlich schon früher festgestellt werden, z. B. bei *Azotobacter chroococcum* (3). Die Frage, ob es sich dabei um die Selektion entstandener Mutanten handelt, und zwar auf Nährsubstraten, die unter dem Einfluß des Wetteragens entsprechend verändert wurden, ließ sich noch nicht eindeutig beantworten. Infektionen mit je 10 bzw. 20 durch KOCHsche Plattenverdünnung erhaltenen Einzelkolonien einer schwach virulenten und einer stark virulenten Kultur hatten einheitlich 10 schwache bzw. 10 starke Erkrankungen zur Folge. Es ist daher nicht anzunehmen, daß die schwach virulenten Kulturen aus Mischpopulationen von avirulenten mit

Tabelle 9

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um sämtliche Zu- und Abnahmen der mit allen vier verschiedenen Bakterienkulturen hervorgerufenen Krankheitssymptome

(Abb. 4)

Tag	—3.	—2.	—1.	Beimpfung von Agar	Pflanze	+1.	+2.	+3.	
$\Sigma\Delta$ P (n = 50)	47	—43	28	168	—87	—48	2		Zunahmen
M in mb	0,9	— 0,9	0,6	3,4	— 1,7	— 1,0	±0		Zunahmen
Σ (M—a_1)²		2047,6		1515,0	1984,2				Zunahmen
t			3,6	4,3					Zunahmen
σ			>3	>3					Zunahmen
% Tage mit steigendem Luftdruck		44		72	38				Zunahmen
Differenz			28	34					Zunahmen
Größtmögliche Zufallsdifferenz			31	31					Zunahmen
$\Sigma\Delta$ P (n = 52)	34	47	—1	—172	17	90	—27		Abnahmen
M in mb	0,7	0,9	±0	— 3,3	0,3	1,7	— 0,5		Abnahmen
Σ (M—a_1)²		2117,0		1547,6		1488,0			Abnahmen
t			3,6		4,6				Abnahmen
σ			>3		>3				Abnahmen
% Tage mit fallendem Luftdruck		46		79		31			Abnahmen
Differenz			33		48				Abnahmen
Größtmögliche Zufallsdifferenz			29		30				Abnahmen

wenigen stark virulenten Keimen bestanden, sondern daß die Virulenzgrade der Einzelindividuen einer Kultur gleich waren.

In den vorliegenden Versuchsreihen war es nicht gut möglich, Beziehungen zwischen Bakterienvirulenz und Nährbodenbeeinflussung durch das Wetteragens zu beweisen. Denn die Nährböden wurden nur etwa jede Woche frisch angesetzt. Deshalb konnten nur Kollektive von 8 und 11 Substratansätzen für deutliche Virulenzzu- bzw. -abnahmen aufgestellt werden. Aus ihnen ließen sich zwar grundsätzlich dieselben Beziehungen wie in Abbildung 2 ableiten, d. h. Virulenzsteigerung auf den Substraten, die bei fallendem Luftdruck zubereitet worden waren, und Virulenzschwund auf solchen bei steigendem Luftdruck angesetzten. Außerdem ergab sich wieder eine deutliche Phasenverschiebung gegenüber 1953 nach links wie in Abbildungen 3 und 4. Aber der Verlauf der Mittelwertskurven ließ sich wegen der kleinen Zahl der Fälle doch nicht genügend sichern. Deshalb soll hier auf ihre Abbildung verzichtet werden.

1956 wurde das Untersuchungsverfahren nochmals geändert. Einerseits wurden von einer etwa sieben Tage alten Ausgangskultur gleichzeitig etwa sechs bis zehn Subkulturen angelegt, 24 Stunden ohne Aluminiumschutz bebrütet und dann bei + 3 °C aufbewahrt. Von ihnen wurde anschließend täglich eine Kultur zur Infektion von zwei Tabakpflanzen in zehnfacher Wiederholung der Stichinfektionen verwendet. Auf diese Weise mußte sich

ein etwaiger Einfluß des Wetteragens auf die Bakterien in der Pflanze zeigen. Andererseits sollte getrennt hiervon ein Einfluß allein auf die Agarkulturen dadurch nachgewiesen werden, daß jeweils an sechs bis zehn aufeinanderfolgenden Tagen auf Agarnährboden abgeimpft, je 24 Stunden bebrütet und dann ebenfalls diese Kulturen bei + 3 °C aufbewahrt und anschließend alle an einem Tage in gleichalte Pflanzen verimpft wurden. Im übrigen wurde wie 1955/56 und 1953 verfahren. Als Maxima und Minima der Infektionswerte kamen nur solche innerhalb ein und derselben sechs- bis zehntägigen Impfreihe in Betracht, wobei ein etwaiger Einfluß des relativen Alters einer Bakterienkultur insofern Berücksichtigung fand, als ältere von vornherein als weniger virulent angesehen wurden.

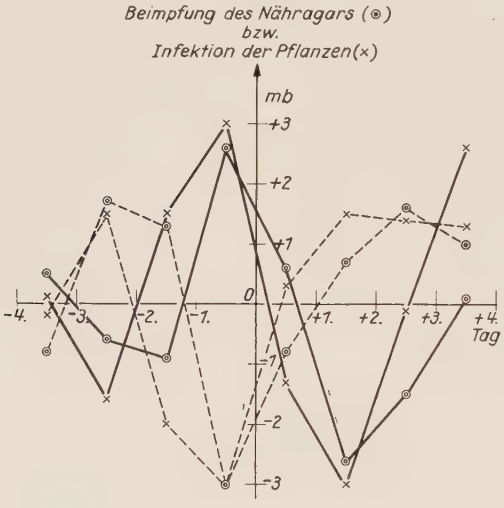


Abb. 6. Mittlere interdiurne Luftdruckänderungen um die Maxima (———) und Minima (– – – –) der Krankheitssymptome einerseits bei Verwendung der Nähragar-Impfdaten als Stichtage und gleichzeitiger Infektion der Pflanzen (⊙) sowie andererseits bei Verwendung der Infektionsdaten als Stichtage und gleichzeitiger Anzucht der Bakterien auf Nähragar (×). Berlin-Dahlem 1956

Das Ergebnis dieser Infektionsversuche von April 1956 bis Februar 1957 ist in Abbildung 6 dargestellt. Noch etwas früher als 1955 und — nicht nur einige Kulturen erfassend — sind 1957 alle Kulturen bereits im September schwächer virulent und im Oktober völlig avirulent geworden. Infolgedessen reichen die Kollektive für Virulenz-Maxima und -Minima nur bis Oktober. Sie bestehen aber immerhin aus je 25 bis 30 Stichtagen. Die sich in Bestätigung früherer Resultate wieder ergebenden Beziehungen, nämlich Virulenz-Maxima in Nähe von steigendem und Minima in Nähe von fallendem Luftdruck, sind trotz der verhältnismäßig kleinen Kollektive durchschnittlich recht gut gesichert (Tab. 10 und 11), vermutlich wegen der Trennung zwischen Agarimpfung und Pflanzeninfektion.

Im Falle der Pflanzeninfektionen darf allerdings nicht von Virulenz, sondern muß von Infektionserfolg gesprochen werden. Denn aus dem fast gleichartigen Kurvenverlauf für Agarimpfung und Pflanzeninfektion als Stichtagen, abgesehen von einer schwachen Phasenverschiebung gegeneinander, ist nicht der Schluß zu ziehen, daß die Pflanze am Zustandekommen oder Ausbleiben der Krankheit nicht beteiligt wäre und sich gewissermaßen genauso verhielte wie unbelebtes Nährsubstrat. Der Nachweis von Abwehrreaktionen der Pflanze in Abhängigkeit vom Wetteragens ist jedoch methodisch nicht einfach zu führen. Immerhin lassen es die Ergebnisse einiger kleiner Vorversuche nicht ausgeschlossen erscheinen, daß die Steuerung der Abwehr-

reaktionen der Wirtspflanze durch das Wetteragens auf dem Umweg über ihre Abschirmung mit Metallen wahrscheinlich gemacht werden kann. So wurden 1953 die in Tabelle 12 zusammengestellten Infektionswerte gemessen, aus denen hervorgeht, daß zumindest am 10. 12. eine Erhöhung der Tabakresistenz durch Abschirmung mit 0, 07 mm Aluminium oder 15 mm Blei von oben während zwei Tagen vor der Infektion stattgefunden hat. Vor einer eingehenden und endgültigen Stellungnahme hierzu müssen natürlich noch Ergebnisse von Versuchen in größerem Umfange abgewartet werden. Es ist aber anzunehmen, daß die Pflanze bei ihrer Bildung von Bakterienhemmstoffen vom Wetteragens ähnlich beeinflußt wird wie beispielsweise der Mensch bei der Bildung von Inhibinen im Speichel (4). Brown und Mitarbeiter (13, 14) konnten bereits feststellen, daß Pflanzen und Tiere in ihrer Lebensaktivität von noch unbekannter Strahlung abhängen, die Schwankungen unterliegt. Diese Schwankungen stehen in Beziehung zu Änderungen des Luftdrucks und der Umgebungsstrahlung. Die Wirkungen werden außerdem durch Abschirmung der biologischen Objekte mit Blei verändert.

Verglichen mit den Kurven von 1953 zeigen die von 1956 eine noch etwas stärkere Phasenverschiebung nach links als diejenigen von 1955/56. Es sieht also wirklich so aus, als läge dieser Erscheinung eine Gesetzmäßig-

Tabelle 10

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Maxima der Krankheitssymptome (Abb. 6)

Tag	—4.	—3.	—2.	—1.	Stichtag	+1.	+2.	+3.	+4.	
$\Sigma \Delta$ P(n = 29)	2	—45	44	87	—37	—87	— 3	74		Pflanzeninfektionen als Stichtage
M in mb	0,1	— 1,6	1,5	3,0	— 1,3	— 3,0	— 0,1	2,6		
$\Sigma (M-a_1)^2$		554,2		712,0		906,0				
t			3,7		4,2					
σ			> 3		> 3					
% Tage mit steigendem Luftdruck		38		79		24				
Differenz			41		55					
Größtmögliche Zufallsdifferenz			41		41					
$\Sigma \Delta$ P(n = 29)	14	—16	—26	75	17	—74	—43	4		Beimpfung der Agarnährböden als Stichtage
M in mb	0,5	— 0,6	— 0,9	2,6	0,6	— 2,6	— 1,5	0,1		
$\Sigma (M-a_1)^2$		520,0		320,0		346,4				
t			3,1		5,7					
σ			fast 3		> 3					
% Tage mit steigendem Luftdruck		41		76		21				
Differenz			35		55					
Größtmögliche Zufallsdifferenz			41		41					

Tabelle 11

Signifikanz der interdiurnen Luftdruckänderungen um die Minima der Krankheitssymptome (Abb. 6)

Tag	—4.	—3.	—2.	—1.	Stichtag	+1.	+2.	+3.	+4.	
$\Sigma\ \Delta$ P (n = 25)	— 5	38	—50	—75	8	38	34	32		Pflanzeninfektionen als Stichtage
M in mb	— 0,2	1,5	— 2,0	— 3,0	0,3	1,5	1,4	1,3		
$\Sigma\ (M—a_1)^2$		480,3		340.0		556,3				
t			3,8		3,7					
σ			> 3		> 3					
% Tage mit fallendem Luftdruck		32		76		40				
Differenz			44		36					
Größtmögliche Zufallsdifferenz			44		43					
$\Sigma\Delta$ P(n = 30)	—25	50	40	— 89	—24	21	49	31		Beimpfung der Agarnährböden als Stichtage
M in mb	— 0,8	1,7	1,3	— 3,0	— 0,8	0,7	1,6	1,0		
$\Sigma\ (M—a_1)^2$		673,0		365,0		438,6				
t			4,4		3,9					
σ			> 3		> 3					
% Tage mit fallendem Luftdruck		37		87		37				
Differenz			50		50					
Größtmögliche Zufallsdifferenz			40		40					

Tabelle 12

Größe der Infektionserfolge

bei Verwendung von 24 Stunden alten, nicht abgeschirmten und mit 0,07 mm Aluminium seitlich und von oben abgeschirmten Bakterien sowie gleichfalls während dieser Zeit nicht abgeschirmter, mit 0,07 mm Aluminium und mit 15 mm Blei nur von oben abgeschirmter Pflanzen. Braunschweig 1953

Datum der Infektion Dezember 1953	Mittlerer ∅ in mm					
	Bakterien nicht abgeschirmt			Bakterien unter Aluminium		
	Pflanzen			Pflanzen		
	nicht abgeschirmt	unter Aluminium	unter Blei	nicht abgeschirmt	unter Aluminium	unter Blei
4.	6,5	6,5		13,0	13,5	
5.	5,5	5,0		11,5	12,0	
8.	8,0	8,0	6,0	8,0	11.5	11,0
9.	8,5	9,5	8,5	11,0	11,5	8,5
10.	8,5	4,5	8,5	10,5	1,5	2,5
11.	6,0	6,0	7,5	13,5	16,5	15,0
12.	13,0	16,0	13,5	13,5	15,0	15,0
15.	4,0	4,0	4,5	3,5	5,0	4,5
Σ	60,0	59,5	48,5	84,5	86,5	56,5
Mittel	7,5	7,4	8,1	10,6	10,8	9,4

keit zugrunde, die möglicherweise vom Sonnenfleckenzyklus ausgeht. Auch die für das Gefrieren von Wasser charakteristischen Luftdruckänderungen waren 1953 im Vergleich mit 1951 weit nach rechts verschoben (7, 8). Vielleicht ist diese Phasenverschiebung immer derartig, daß die charakteristische Luftdruckänderung in Nähe eines Sonnenflecken-Minimums erst ein bis mehrere Tage nach dem physikalisch-chemischen oder biologischen Ereignis auftritt, in Nähe eines Fleckenmaximums aber unmittelbar danach, gleichzeitig oder sogar schon etwas vorher. Da 1953 durch Metallabschirmung des Testobjektes dessen Reaktion und die zugehörige Luftdruckänderung zeitlich einander genähert wurden, ist es das Versuchsobjekt, das in bezug auf die Luftdruckänderung vor einem Sonnenflecken-Minimum früher und vor einem Maximum später reagierte.

Dieses und das wiederholt festgestellte Nachlassen biologischer und physikalisch-chemischer Reaktionen wie z. B. hier der Virulenz, ferner des Bakterienschwärmens, der streifigen Phosphatfällung, der Gefrierbereitschaft unterkühlten Wassers usw. im Herbst und Winter deutet auf die Sonne als Quelle der wirksamen Strahlung. Damit soll nicht gesagt sein, daß unveränderte solare Strahlung unmittelbar die biologischen und physikalisch-chemischen Wirkungen auslöst. Die bisherigen Ergebnisse eigener, verhältnismäßig kleiner Versuchsreihen haben vielmehr stets gezeigt, daß die Beziehungen der biologischen und physikalisch-chemischen Reaktionen zu Luftdruckänderungen enger sind als beispielsweise zu den Sonnenflecken oder zur erdmagnetischen Aktivität der Sonne. In früheren Veröffentlichungen wurde wiederholt darauf hingewiesen.

Hier drängt sich die Frage auf, warum im scheinbaren Widerspruch zum eben Gesagten der Fällungstest nach Piccardi (21) ganz offensichtlich mit der Sonnenaktivität im Einklang steht. Sicher ist das zumindest auch auf die sehr große Ausdehnung der Versuchsreihen zurückzuführen, zumal in die entsprechenden Kurven 10 Tage-, Monats- oder gar Jahresmittelwerte eingesetzt wurden. Bei Verwendung von Tageswerten in großen Kollektiven steht selbst die Piccardi-Reaktion nicht unter allen Umständen in deutlicher Korrelation zu irgendwelchen Aktivitäten der Sonne. Dasselbe gilt für entsprechende Feststellungen anderer Autoren an anderen Objekten, z. B. auch für die Auslösung des Myocardinfarktes auf Grund der Untersuchungen von Fieber (16). Berg (1) meint in seinen kritischen Betrachtungen über die Versuchsergebnisse Piccardis, daß die Sonnenflecken-Relativzahl offenbar nicht der beste Ausdruck für die als Ursache in Frage kommende solare Tätigkeit sei. Die kausalen Verknüpfungen im kosmo-meteoro-biologischen Geschehen müssen also nach wie vor als problematisch bezeichnet werden. Sicher ist allerdings, daß physikalisch-chemische und biologische Objekte in Korrelation zur Sonnenaktivität wie zum Wettergeschehen von Strahlung beeinflußt werden, und daß anscheinend auch das Wetter selbst von variabler Strahlung der Sonne gesteuert wird (18, 19). Wie diese Strahlungen physikalisch beschaffen sind, wo sie in ihrer wirksamen Form entstehen und welcher Art die Beziehungen zwischen ihnen, der Sonnenaktivität und den Wetteränderungen sind, ist dagegen nach wie vor ungeklärt. Hierüber gibt es nur

Hypothesen, abgesehen von einigen kleineren oder noch nicht genügend erhärteten experimentellen Befunden (2, 6, 21, 22, 23).

So ausgedehnte Versuchsreihen, wie sie PICCARDI erstmalig und mit so überzeugenden Ergebnissen aufgestellt hat, lassen sich aber mit biologischen Objekten nicht leicht durchführen und waren bei den eigenen Untersuchungen auch nicht beabsichtigt. Wenn früher vereinzelt den Vergleichen größere Zeiträume und nicht Tage oder gar Stunden zugrunde gelegt wurden, dann zeigten sich auch hier Beziehungen zum Sonnenfleckenzyklus. Die Untersuchungsergebnisse über die Farbstoffbildung von *Bacterium violaceum* lassen z. B. den Schluß zu, daß dieses Bakterium auf einem bestimmten Nährsubstrat in den Jahren mit zunehmender Fleckentätigkeit der Sonne ganz überwiegend violett wächst, in den Jahren mit abnehmender Fleckentätigkeit und erhöhter erdmagnetischer Aktivität der Sonne aber überwiegend farblos. Änderungen im Verhalten des Bakteriums an einzelnen Tagen lassen sich jedoch ebenfalls nur mit Luftdruckänderungen und nicht oder nur schlecht mit der Sonnenaktivität korrelieren (9, 11). Ähnliches gilt für die Phosphat-Fällungsreaktion als Testobjekt (7). Auch TAKATA (23) hat schon immer betont, daß die von ihm untersuchten Serum-Flockungszahlstörungen nur in Zeiten erhöhter Sonnenaktivität zu beobachten sind. Es ergibt sich also, daß Schwankungen von Tag zu Tag im Verhalten verschiedener belebter und unbelebter Testobjekte meistens besser mit Luftdruckänderungen als mit Änderungen der Sonnenaktivität in Einklang zu bringen sind, während bei Betrachtung größerer Zeitspannen die Beziehungen zur Sonnenaktivität klarer hervortreten und natürlich keine Wetterkorrelationen möglich sind. So ist es auch hier bei den vorliegenden kurzfristigen Versuchsreihen. Zur Sonnenaktivität bestehen keine klaren Beziehungen weder zu den Fleckenrelativzahlen R[1]) noch zu den erdmagnetischen Charakterzahlen[2]), abgesehen von einer Ausnahme, die in Abbildung 7 als unterste der vier Kurven dargestellt ist. 1956 trafen nämlich Virulenz-Minima bei Verwendung der Nähragar-Impfdaten

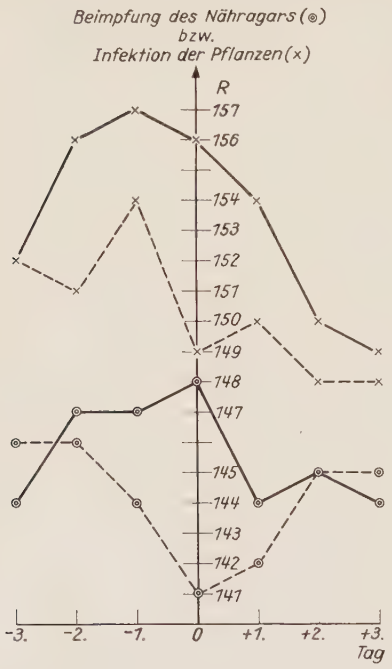


Abb. 7. Mittlere Sonnenflecken-Relativzahlen (R) um die Maxima (———) und Minima (– – –) der Krankheitssymptome einerseits bei Verwendung der Nähragar-Impfdaten als Stichtage und gleichzeitiger Infektion der Pflanzen (⊙) sowie andererseits bei Verwendung der Infektionsdaten als Stichtage und gleichzeitiger Anzucht der Bakterien auf Nähragar (×).
Berlin-Dahlem 1956

[1]) Endgültige Züricher Zahlen.

[2]) Observatorium Wingst.

als Stichtage überzufällig oft mit Minima der Sonnenflecken-Relativzahlen zusammen. Die Differenz zwischen den prozentualen Häufigkeiten von Flecken-Minima an den Stichtagen einerseits und den — 2. und + 2. Tagen andererseits übersteigen etwas die größtmöglichen Zufallsdifferenzen. Es hat also den Anschein, daß *Pseudomonas tabaci* beim Auftreten größerer und zahlreicherer Flecken auf der Sonne unter den 1956 eingehaltenen Versuchsbedingungen virulenter wurde. Vorläufig ist diese Beziehung aber wegen des Verlaufs der anderen Kurven trotzdem als sehr locker zu betrachten. Sie könnte vielleicht enger sein, wenn nicht die Flecken der ganzen Sonnenscheibe, sondern nur diejenigen eines zentralen Bereichs berücksichtigt würden.

Daß dagegen die Beziehungen der Infektionserfolge zu den interdiurnen Luftdruckänderungen verhältnismäßig deutlich hervortreten, dürfte nicht nur den kurzen Versuchszeiten, sondern auch dem Umstand zu verdanken sein, daß es gelungen ist, den Komplex von Wirkungen, die letztlich den Infektionserfolg bestimmen, etwas zu entflechten. Es war möglich, die Einflüsse auf den Agarnährboden, auf die Bakterien während der Agarkultur und schließlich auch während ihrer Entwicklung in der Pflanze gesondert zu untersuchen. Die Wirkung des Wetteragens auf die Bakterien in der Pflanze wäre vielleicht noch deutlicher gewesen, wenn es auch gelungen wäre, hiervon die Beeinflussung der Wirtspflanzen-Resistenz abzutrennen.

Durch die mitgeteilten Versuchsergebnisse wird erneut bewiesen, daß der Infektionserfolg und damit unter Umständen Ausbruch und Erlöschen einer Epidemie vom unbekannten Wetteragens der hypothetischen Wetterstrahlung gesteuert werden. Diese Strahlung, die bei zyklonalen Wetterentwicklungen umgekehrt wirkt wie bei antizyklonalen, scheint zwar primär ihren Ursprung in variabler Strahlung der Sonne zu haben, jedoch erst nach entsprechenden Umwandlungen in der Erdatmosphäre physikalisch-chemisch und biologisch wirksam zu werden.

Zusammenfassung

1953 bis 1957 wurde in mehreren kürzeren Versuchsreihen festgestellt, daß die Virulenz von *Pseudomonas tabaci* (Wolf und Foster) Stevens und der Erkrankungsgrad der mit diesem Bakterium infizierten Tabakblätter in ihrem Ausmaß deutlich schwankten. Die Schwankungen verliefen parallel zu bestimmten Wetteränderungen. Bei zyklonalen Wetterentwicklungen (fallender Luftdruck) während der Zubereitung des für die Anzucht der Bakterien verwendeten Nährbodens und bei antizyklonalen Wetterentwicklungen (steigender Luftdruck) während und nach der Bakterienvermehrung waren die Krankheitssymptome verstärkt. Sie wurden dagegen abgeschwächt oder traten überhaupt nicht in Erscheinung bei antizyklonalen Wetterentwicklungen während der Nährbodenherstellung und bei zyklonalen während und nach der Bakterienvermehrung. Durch Abschirmung der Bakterienkulturen mit Aluminiumfolie als Strahlenabsorber oder -reflektor sowie in verschiedenen Jahren traten in den Kurven der mittleren interdiurnen Luftdruckänderungen um die

Stichtage charakteristische Phasenverschiebungen auf. Beziehungen zwischen der Schwere der Erkrankungen oder der Bakterienvirulenz und der Sonnenaktivität konnten mit einer Ausnahme nicht festgestellt werden. Es wurde versucht, hierfür eine Erklärung zu geben.

Summary

It was shown in 1953 to 1957, in a number of short experimental series, that the virulence of *Pseudomonas tabaci* (Wolf et Foster) Stevens and the extent of disease caused on tobacco leaves by infection with this bacterium are subject to considerable fluctuations. The fluctuations ran parallel to certain weather alterations. When cyclonic disturbances (falling atmospheric pressure) occurred during the preparation of the medium employed for the culture of the bacteria, and were followed by anticyclonic developments (rising pressure) during and after the development of the bacteria, the pathological symptoms were increased. On the other hand they were reduced or suppressed altogether by anticyclonic conditions during the preparation of the culture medium and cyclonic disturbances during and after the reproduction of the bacteria. When the bacterial cultures were protected by aluminium foil as a radiation absorber or reflector and also in different years characteristic shifts occurred in the curves of the mean interdiurnal changes in atmospheric pressure round the period of infection. With one exception no correlation could be observed between the intensity of symptoms or the virulence of the bacteria and the sun's activity. An attempt is made to give an explanation for this.

Literaturverzeichnis

1. BERG, H., 1957: Solar-terrestrische Beziehungen in Meteorologie und Biologie. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K. G., Leipzig.
2. BERGTER, F., und D. NOACK, 1956: Über eine auf biologische und physikochemische Systeme wirksame Komponente der kosmischen Strahlung (KS). Naturwissenschaften **43**, 208.
3. BORTELS, H., 1940: Meteorobiologische Untersuchungen an *Azotobacter*. Zbl. Bakt. II, **102**, 129—153.
4. — —, 1942: Über Beziehungen zwischen epidemiologischem und meteorologischem Geschehen unter besonderer experimenteller Berücksichtigung der Inhibinwirkung. Zbl. Bakt. II, **104**, 289—325.
5. — —, 1949: Über die Abhängigkeit der Virulenz und anderer Eigenschaften pflanzenpathogener Bakterien sowie des Infektionserfolges vom Wetterverlauf. Phytopath. Z. **15**, 376—393.
6. — —, 1949: Mikrobiologischer Beitrag zur Klärung der Ursachenfrage in der Meteorobiologie. Arch. Mikrobiol. **14**, 450—508.
7. — —, 1954: Zwei einfache Modelle meteorobiologischer Reaktionen in ihren Beziehungen zu Luftdruckänderungen und zur Solaraktivität. Arch. Meteorol., Geophys. u. Bioklim. B **5**, 234—257.

8. — —, 1956: Das Gefrieren unterkühlten Wassers in Beziehung zu interdiurnen Luftdruckänderungen und zur Solaraktivität. Arch. Meteorol., Geophys. u. Bioklim. B **7**, 269—276.

9. — —, 1956: Beziehungen zwischen Wetterwechsel, Atmung und Farbstoffbildung bei Mikroorganismen. Zbl. Bakt. II, **109**, 329—335.

10. — —, 1958: Synchronbeobachtungen über Beziehungen physikalisch-chemischer und mikrobiologischer Reaktionen zu Luftdruckänderungen in und bei Braunschweig 1953/54. Arch. Meteorol., Geophys. u. Bioklim. B. Im Druck.

11. — —, und H. Koppe, 1956: Über Beziehungen zwischen den Wirkungsgraden von Jute-Bandspinnmaschinen und der Farbstoffbildung durch *Chromobacterium violaceum* sowie der interdiurnen Luftdruckänderung, der erdmagnetischen Aktivität und der Grenzfrequenz der sporadischen E-Schicht. Melliand Textilber. **37**, 1011—1016.

12. Braun, Armin C., 1955: A study on the mode of action of the wildfire toxin. Phytopathology **45**, 659—664.

13. Brown, Fr. A. Jr., J. Shriner, and H. M. Webb, 1957: Similarities between daily fluctuations in background radiation and O_2-consumption in the living organism. Biol. Bull. **113** (1), 103—111.

14. — —, H. M. Webb, and E. J. Macey, 1957: Lag-lead-correlations of barometric pressure and biological activity. Biol. Bull. **113** (1), 112—119.

15. Donle, W., 1956: Jahreszeit und Witterung im Seuchengeschehen. Verlag Ferd. Enke, Stuttgart.

16. Fieber, S., 1952: Untersuchungen über die Auslösung des Myocardinfarktes durch meteorologische und solare Faktoren. Angew. Meteorol. **1**, 129—136.

17. Koller, S., 1953: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Verlag Dr. Dietr. Steinkopff, Darmstadt.

18. Koppe, H., 1948: Kalendermäßige Bindung im Witterungsablauf und kosmische Steuerung. Ann. Meteorol. **1**, 294—301.

19. — —, 1951: Sonnenaktivität, Großwetter und wetterbezogene Reaktionen. Ann. Meteorol. **4**, 87—96.

20. Lindner, A., 1945: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure. Basel.

21. Piccardi, G., 1955: Über einen Zusammenhang zwischen atmosphärischen und kosmischen Phänomenen und physikalisch-chemischen Prozessen. Arch. Meteorol., Geophys. u. Bioklim. B **6**, 486—505.

22. Takata, M., 1950: Zur Technik der Flockungszahlreaktion im menschlichen Serum, zugleich Intensitätsbestimmung der Vital-Ionisation bei der Bestrahlung des Menschen. Helvetica Medica Acta **17**, 254—274.

23. — —, 1951: Über eine neue biologisch wirksame Komponente der Sonnenstrahlung. Arch. Meteorol., Geophys. u. Bioklim. B **2**, 487—508.

Kurze Mitteilungen

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben

Zur Ätiologie des Mohnmosaiks

Von

K. Schmelzer und W. Rondomański

Mit einer Abbildung

In einer Arbeit über Virusübertragungsversuche mit Blattläusen beschrieb Heinze (1952) unter der Bezeichnung „Mohnmosaik-Virus" eine Erkrankung des Mohns (*Papaver somniferum* L.), die mit einer von uns seit mindestens sieben Jahren im Raum von Aschersleben beobachteten Erkrankung dieser Pflanze identisch sein dürfte. In verschiedenen Jahren wechselte der Prozentsatz der befallenen Pflanzen, jedoch trat die Krankheit zweifellos schon lange vor unserer erstmaligen Beobachtung auf.

Wir stellten folgende Symptome fest: Die Blätter zeigen ein Mosaik aus grünen und graugelblichen Bezirken, wobei der Anteil des normal grün gebliebenen Gewebes größer oder kleiner als der des aufgehellten sein kann. Die Scheckung pflegt sich nach dem Verlauf der sekundären Blattnerven auszurichten (Abbildung). Dadurch, daß die grünen Areale zu stärkerem Wachstum befähigt sind, erheben sie sich etwas über das Niveau der übrigen Blattfläche und können zu mäßigen Verbeulungen führen. Die Stengel zeigen oft eine verstärkte hellgrüne Längsstreifung. Nekrosen treten nicht auf; frühzeitig erkrankte Pflanzen bleiben im Wachstum deutlich zurück. Der Neuzuwachs zeigt keine Abschwächung der Symptome, befallene Exemplare sind in einiger Entfernung durch ihr fahlgraues Aussehen kenntlich.

Bei der Untersuchung des experimentellen Wirtspflanzenkreises des Rübenmosaik-Virus (Schmelzer 1958) erwiesen sich auch die meisten der geprüften Papaveraceen als anfällig. Sie bildeten Mosaiksymptome aus, die Ähnlichkeit mit der beschriebenen Spontanerkrankung von *Papaver somniferum* hatten. Es lag daher nahe zu untersuchen, ob nicht das Rübenmosaik-Virus die Ursache des Mohnmosaiks ist.

Im Jahre 1958 waren die Verhältnisse für dieses Vorhaben nicht besonders günstig. Auf Grund seiner durch pilzliche Krankheitserreger und

Das Mohnmosaik an *Papaver somniferum.*
Links: krankes, rechts: gesundes Blatt. Oben: Auflicht, unten: Durchlicht

tierische Schädlinge bewirkten Ertragsunsicherheit ist der Mohnanbau seit mehreren Jahren stark zurückgegangen, außerdem trat in diesem Jahre das Mohnmosaik recht selten auf. Es konnten insgesamt nur sechs kranke Exemplare von verschiedenen Feldern aus der Umgebung von Aschersleben und Alsleben untersucht werden. Getrennte Verimpfungen ihrer Preßsäfte auf Zuckerrübe bzw. Vogelmiere erbrachten den Nachweis, daß fünf Pflanzen

ein Virus enthielten, dessen Symptome sich nicht von denen des Rübenmosaik-Virus unterschieden. Der Virusnachweisversuch an der sechsten Pflanze schlug aus unbekannten Gründen fehl. Eine der Isolierungen wurde weiter untersucht. Mit Preßsaft infizierter *Stellaria media* gelang es, an einer Anzahl systematisch sehr verschiedener Pflanzenarten Reaktionen hervorzurufen, wie sie einer von uns in Untersuchungen des Wirtspflanzenkreises des Rübenmosaik-Virus beobachtet hat (Tabelle). Das genannte Virus ist daher als die Ursache des Mohnmosaiks anzusprechen.

Die Reaktion verschiedener Pflanzenarten auf mechanische Beimpfungen mit einer Isolierung des Mohnmosaiks

Pflanzenart	Symptome
Beta vulgaris L.	deutliches Mosaik der Folgeblätter, leichte Blattdeformationen
Chenopodium quinoa Willd.	nekrotische oder chlorotische Lokalläsionen, Vergilbung der herabgekrümmten Folgeblätter, Nekrose und Verbiegung des Stengels, Absterben der Triebspitze
Stellaria media (L.) Vill.	weißliches Mosaik und Deformationen der Folgeblätter
Gomphrena globosa L.	nekrotische Lokalläsionen mit rotem Rand, keine Folgesymptome
Tetragonia tetragonoides (Pall.) O. Ktze.	chlorotische bis nekrotische Lokalläsionen; chlorotische Flecke und löffelförmige Verbiegung der Blattränder nach unten können an den Folgeblättern auftreten
Pisum sativum L.	violettbraune nekrotische Flecke an den Folgeblättern, Stengelnekrose, Absterben der Triebspitze
Trigonella coerulea (L.) Ser.	gelbe Adernaufhellung an den Folgeblättern, von der ein leuchtend gelbes Mosaik ausgeht, später Absterben der Triebspitze
Vicia faba L.	schwarzbraune, runde nekrotische Flecke verschiedener Größe an den abgeriebenen Blättern, keine Folgesymptome
Cucumis sativus L.	keine Symptome

Die Vermutung, daß das von HEINZE (1952) beobachtete Mohnmosaik mit dem von uns untersuchten identisch ist und somit nichts anderes als das Rübenmosaik-Virus darstellt, wird dadurch unterstützt, daß der genannte Autor *Myzus persicae* Sulz. und *Doralis fabae* (Scop.) als Überträger feststellte. Sie sind beide seit langem als Vektoren des Rübenmosaik-Virus be-

kannt. Die Übertragung des Virus von der Rübe auf den Mohn wird nicht selten durch anbautechnische Maßnahmen begünstigt. Da sie beide intensive Bodenbearbeitung erfordern, werden sie sehr oft unmittelbar nebeneinander auf demselben Acker in einer Fruchtfolge angebaut. Vor allem in den Notzeiten nach dem zweiten Weltkriege war auch der Mischanbau beider Pflanzen stark verbreitet. Daher dürfte in diesen Jahren das Mohnmosaik verhältnismäßig häufig gewesen sein.

Literaturverzeichnis

Heinze, K., 1952: Virusübertragungsversuche mit Blattläusen auf Dahlien, Gurken, Zwiebeln, Wasserrüben und einigen anderen Pflanzen. Z. Pflanzenkrankh. **59**, 3—13.

Schmelzer, K., 1958: Zur Kenntnis des Wirtspflanzenkreises des Rübenmosaik-Virus (*Marmor betae* Holmes). Zbl. Bakt. 2. Abt. (im Druck).

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusserologie und Institut für Landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Serologische Verwandtschaft zwischen Steinkleevirus, Stauchevirus der Erbse und Wisconsin pea streak-Virus

Von

C. Wetter und L. Quantz

Quantz und Brandes (8) berichteten über ein Virus, das 1954 von Steinklee *(Melilotus alba* Desr.) isoliert worden war. Vor allem auf Grund des Wirtskreises, der Symptomausbildung und der Eigenschaften wurde vermutet, daß dieses Steinkleevirus (SKV) zur Gruppe der Viren gehöre, die streak-Krankheiten bei Erbsen verursachen. Erbsen-streak-Viren waren bisher in Deutschland nicht beschrieben worden; dagegen sind sie seit längerem aus Nordamerika (10, 3, 5) und Neuseeland (2) bekannt. Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den verschiedenen Virusisolaten waren jedoch nicht völlig klar, da bislang keine serologischen Untersuchungen durchgeführt worden waren.

Die elektronenmikroskopische Vermessung (1) der eher starr als flexibel erscheinenden Partikeln des SKV ergab eine Normallänge von 616 mμ, die eine sichere Abgrenzung gegen andere, auf Erbsen vorkommende Viren, wie z. B. das *Phaseolus*-Virus 2, das Weißkleevirus (1), das Rübenmosaikvirus und das Gurkenmosaikvirus erlaubt.

Wie im folgenden näher ausgeführt wird, ist das deutsche SKV mit den nordamerikanischen Viren nahe verwandt. Zum serologischen Vergleich mit dem SKV benutzten wir das Wisconsin pea streak-Virus (WPSV) und das I 5-Isolat des Idaho streak-Virus (ISV)[1]). Das Isolat I 5 ähnelt nach Kim und Hagedorn (6) dem WPSV hinsichtlich der Symptome und einiger physikalischer Eigenschaften, läßt sich aber auf Grund von Unterschieden im Wirtskreis, in seinem thermalen Inaktivierungspunkt und der Beständigkeit in vitro abgrenzen. Diese bereits innerhalb der nordamerikanischen Isolate vorhandenen Unterschiede erlauben es auch, einem etwas abweichenden Verhalten des SKV nicht zu großes Gewicht beizulegen. Auch das von Zaumeyer (10) beschriebene American pea streak-Virus [Pea streak virus 1

[1]) Herrn Prof. Dr. D. J. Hagedorn, Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, danken wir für die freundliche Überlassung der Stämme.

Zaumeyer, *Pisum*-Virus 5 Weiß (9)] weist vor allem mit dem Steinkleevirus bemerkenswerte Übereinstimmung auf. Da eine Kultur dieses Virus nicht mehr vorhanden ist[1]), konnte es nicht mit den anderen streak-Viren verglichen werden.

Der serologische Vergleich des SKV mit dem WPSV und dem ISV wurde mit den drei entsprechenden Antiseren durchgeführt[2]). Als Antigene waren jedoch nur das SKV und das ISV verfügbar. Die Antiseren wurden gegen Antigenverdünnungen $^1/_{10}$, $^1/_{20}$, $^1/_{40}$, $^1/_{80}$ und $^1/_{160}$ im Röhrchentest bei einer Wasserbadtemperatur von 40 °C getestet. Nach 60 Minuten wurden die in Tabelle 1 wiedergegebenen Serumtiter erreicht.

Mit dem ISV- und ebenso mit dem WPSV-Antiserum wurde gegen das SKV-Antigen ein etwas niedrigerer Titer erreicht als gegen das ISV-Antigen. Da aber auch das SKV-Antiserum mit dem homologen SKV-Antigen etwas schwächer reagiert als mit dem ISV, dürfte die Ursache hierfür in der unterschiedlichen Herkunft der beiden Antigene zu suchen sein; denn das ISV stammt aus *Vicia faba*, das SKV jedoch aus Erbse. Das immunologische Verhalten der drei Viren weist auf eine nahe Verwandtschaft untereinander hin und zeigt, daß das deutsche SKV und das I 5-Isolat als Stämme des WPSV aufzufassen sind.

Tabelle 1

Titer des SKV-, ISV- und WPSV-Antiserums mit den Antigenen SKV und ISV

Antiserum	Antigen	Titer
SKV	SKV	1/2048
SKV	ISV	1/4096
ISV	ISV	1/4096
ISV	SKV	1/1024
WPSV	ISV	1/4096
WPSV	SKV	1/2048

Tabelle 2

Verhalten der Antigene SKV, ISV und EKV im α-Optimum gegen SKV und EKV-Antiserum

Antiserum	Antigen	Antigenverdünnung 1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
		Relative Stärke der Reaktionen						
SKV	SK	+++	+++	+++	++	++	+	—
Verdünnung 1/32	ISV	+++	+++	+++	++	+	±	—
	EKV	0	0	0	0	+	±	—
EKV	EKV	+++	+++	+++	++	+	±	sp
Verdünnung 1/64	SK	0	±	+	+	+	±	0
	ISV	0	0	0	0	sp	±	sp

Die relative Stärke der Reaktionen wird durch die Zeichen: +++, ++, +, ±, sp (Spur) wiedergegeben, 0 = kein Präzipitat, — = nicht geprüft.

[1]) Schriftliche Mitteilung von Herrn Dr. Zaumeyer.

[2]) Die Antiseren gegen WPSV und ISV wurden vom erstgenannten Autor während eines Aufenthaltes im Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, gemeinsam mit Dr. W. S. Kim hergestellt.

Ein weiteres Virus, das Stauchevirus der Erbse (EKV), wurde in Deutschland von gestauchten und streak-artig welkenden Erbsen wiederholt isoliert und untersucht (7). Dieses Virus ist serologisch nur weitläufig mit dem SKV verwandt, obwohl Ähnlichkeiten in symptomatologischer, chemo-physikalischer und morphologischer Hinsicht mit dem SKV bestehen. Hierfür seien die serologischen Reaktionen im α-Optimum zum Beleg angeführt (Tab. 2). Es kann hier freilich noch nicht mit letzter Sicherheit eine Verunreinigung des einen Virus mit dem anderen ausgeschlossen werden. In weiteren serologischen Untersuchungen soll geklärt werden, ob eine Verwandtschaft des EKV mit dem Wisconsin pea stunt-Virus (4) und dem red clover vein mosaic-Virus besteht.

Summary

Comparative serological investigations on a German sweet clover virus, Wisconsin pea streak virus, and the I 5-isolate of the Idaho streak virus gave evidence that these viruses are closely related to one another. The serological relationship to a German pea stunt virus is more distant, but it needs further examination in order to prove that this virus is related to the Wisconsin pea stunt virus.

Literaturverzeichnis

1. BRANDES, J., und L. QUANTZ, 1957: Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Weißkleevirus und des Steinkleevirus. Arch. Mikrobiol. **26**, 369—372.
2. CHAMBERLAIN, E. E., 1939: Pea streak (*Pisum* virus 3). New Zealand J. Sci. and Techn. **20**, 365 A—381 A.
3. HAGEDORN, D. J., and J. C. WALKER, 1949: Wisconsin pea streak. Phytopathology **39**, 837—847.
4. — —, and — —, 1949: Wisconsin pea stunt, a newly described disease. J. Agric. Res. **78**, 617—626.
5. — —, and — —, 1954: Virus diseases of canning peas in Wisconsin. Res. Bull. Wis. agric. Exp. Sta. **185**, 32 pp.
6. KIM, W. S., and D. J. HAGEDORN, 1957: Studies with virus incitants of pea streak. Phytopathology **47**, 526 (abstr.).
7. QUANTZ, L., 1958: Ein Beitrag zur Kenntnis der Erbsenvirosen in Deutschland. Nachr.-Bl. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **10**, 65—70.
8. — —, und J. BRANDES, 1957: Untersuchungen über ein Steinkleevirus. Nachr.Bl. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **9**, 6—10.
9. WEISS, F., 1939: A key to the typical viruses of leguminous crops. Plant Dis. Rep. **23**, 352—361.
10. ZAUMEYER, W. J., 1938: A streak disease of peas and its relationship to several strains of alfalfa mosaic virus. J. Agr. Res. **56**, 747—772.

Die wichtigsten Krankheiten der Kartoffelknollen

Erkennen, Bedeutung und Bekämpfung

Von

Prof. Dr. H. BRAUN

Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

1958. 3., verbesserte Auflage. 49 Seiten mit 66 Abbildungen. Kartoniert DM 6,80

Krankheiten und Schädigungen der Kartoffelknollen spielen bei der wirtschaftlichen Verwertung wie im Kartoffelhandel eine ausnehmend wichtige Rolle. Die Kenntnisse über viele Zusammenhänge beim Auftreten von Kartoffelkrankheiten sind jedoch sehr lückenhaft. Der Verfasser vermittelt mit diesem Buch den gegenwärtigen Stand des Wissens um die Knollenkrankheiten der Kartoffeln. Das eindeutige Erkennen dieser Krankheiten wird durch möglichst erschöpfende und kennzeichnende Beschreibung und auch durch symptomgetreue bildliche Wiedergabe erleichtert. So werden die verschiedenen parasitären Krankheiten, wie Trocken-, Naß- und Ringfäulen, die Pockenkrankheiten, Schorf und Krebs, behandelt. Ebenso erfolgt eine Beschreibung der nichtparasitären Krankheiten. Auch das Wesen der Wundkorkbildung wird eingehend erläutert.

E. GRAM / P. BOVIEN / C. STAPEL

Farbtafelatlas der Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen

Herausgegeben vom Landwirtschaftlichen Informationsdienst Kopenhagen

1956. 128 Seiten mit 720 mehrfarbigen Abbildungen auf 112 Tafeln

Bilderklärungen dreisprachig, Sachregister viersprachig (Latein). In Ganzleinen DM 19,50

Das deutschsprachige phytopathologische Fachschrifttum findet eine hervorragende Ergänzung in diesem dänischen Farbtafelatlas. Bisher hat es wohl noch keine so umfangreiche Zusammenstellung von mehrfarbigen Abbildungen kranker und von Schädlingen befallener landwirtschaftlicher Kulturpflanzen in Ganz- und Teildarstellung sowie der Schädlinge selbst in einer so wirklichkeitsnahen und naturgetreuen Wiedergabe gegeben. Auf 112 ganzseitigen Farbtafeln sind 720 Abbildungen zusammengestellt, die Getreide, Gräser, Klee, Luzerne und ähnliche Futterkräuter, Hülsenfrüchte, Rüben, Kohlrüben, Raps und andere Kreuzblütler, Kartoffeln, Möhren und Flachs behandeln. Jeder Bildtafel gegenübergestellt ist eine kurze Erklärung in dänischer, englischer und deutscher Sprache, das Sachregister am Ende des Buches bringt außerdem auch noch die lateinischen Bezeichnungen. Dadurch wird der Band nicht nur zu einem einzigartigen Nachschlagewerk, das viele hundert hochwertige farbige Abbildungen in sich vereinigt, sondern gleichzeitig auch zu einem geeigneten deutsch-englisch-dänischen Fachwörterbuch für das Gebiet der Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Vorankündigung

Am 1. April 1959 beginnt zu erscheinen:

DER ERWERBSOBSTBAU

Eine überterritoriale Zeitschrift neuer Prägung

für alle, die Obstbau erwerbsmäßig betreiben, mit Obst handeln, es lagern und verarbeiten oder im Obstbau forschend, lehrend oder praktisch tätig sind.

Herausgegeben von

Prof. Dr. P.-G. DE HAAS, Hannover; Prof. Dr. F. HILKENBÄUMER, Bonn; Prof. h. c. E. KEMMER, Berlin; Prof. Dr. G. LIEBSTER, Weihenstephan; Prof. Dr. E. L. LOEWEL, Jork; Prof. Dr. C. F. RUDLOFF, Stuttgart-Hohenheim

Redaktion: J. K. GASSNER, Hannover

Mit dieser neuen Zeitschrift wird erstmalig ein von allen Universitäts- und Hochschulinstituten der Bundesrepublik, die sich mit Obstbau-Problemen befassen, gemeinsam herausgegebenes Veröffentlichungsorgan entstehen. Die Zeitschrift will die von der Wissenschaft erarbeiteten neuen Erkenntnisse dem fortschrittlichen Erwerbsobstbau in einer für die Nutzanwendung in der Praxis geeigneten Form vermitteln. Hierzu wird sie die Ergebnisse aller Zweige der obstbaulichen Forschung in aktuellen Originalbeiträgen, Eigen- und Fremdreferaten veröffentlichen, durch Berichte über die Marktsituation informieren und damit die Voraussetzungen für Steigerung von Qualität und Rentabilität schaffen. Nach Inhalt und Ausstattung wird diese Zeitschrift das repräsentative Fachorgan des deutschen Obstbaues sein.

Die Zeitschrift erscheint monatlich, das Heft zu 20 Seiten und 4 Seiten Umschlag, im Format DIN A 4 — zweispaltig — auf Kunstdruckpapier. Bezugspreis vierteljährlich etwa 12,— DM.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 61, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19
Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).